



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DA MATURAÇÃO E DA SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA COM
VITAMINA E SOBRE A TENRURA E A ESTABILIDADE
COLORIMÉTRICA DA CARNE DE BOVINO

NUNO RICARDO DUARTE MILHARADAS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António Salvador Barreto

Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma

ORIENTADOR

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma

CO-ORIENTADOR

Dr. Luís Santana Correia

2015

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DA MATURAÇÃO E DA SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA COM
VITAMINA E SOBRE A TENRURA E A ESTABILIDADE
COLORIMÉTRICA DA CARNE DE BOVINO

NUNO RICARDO DUARTE MILHARADAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António Salvador Barreto

Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma

ORIENTADOR

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma

CO-ORIENTADOR

Dr. Luís Santana Correia

2015

LISBOA

À minha avó Joaquina e ao meu companheiro de 4 patas Dick...

“Querer é Poder”

Lema do Instituto Militar dos Pupilos do Exército

Agradecimentos

O tema dos agradecimentos que erradamente julguei ser o de escrita mais fácil, afinal perfilou-se cheio de obstáculos e muitas emendas, pois é difícil encontrar em palavras todos os sentimentos de apreço e gratidão que sinto.

Em primeiro lugar e porque não poderia ser de outra forma, quero agradecer ao meu orientador e amigo, Professor Doutor Mário Quaresma, por toda a atenção e paciência que teve para comigo, pela força que me transmitiu quando os momentos de ânimo não eram os melhores, por todos os ensinamentos e pelas maravilhosas histórias contadas.

Ao Professor Doutor José Mestre Prates, responsável do laboratório de Bioquímica da Faculdade de Medicina Veterinária, pela disponibilização do espaço onde foram realizadas todas as análises de Bromatologia.

À Dona Ana, funcionária do laboratório de Bioquímica pelos seus “bons dias” sempre tão carinhosos.

Ao Professor Doutor António Barreto, responsável do laboratório de Tecnologia dos Produtos Animais da Faculdade de Medicina Veterinária, pela disponibilização dos equipamentos e do espaço onde foram realizadas as análises de colorimetria, avaliação da força de corte e avaliação do pH. O meu apreço também a todas as funcionárias deste laboratório pela ajuda constante e palavras de simpatia.

Ao Professor Doutor José Pedro Lemos pela disponibilidade e ajuda prestadas na realização dos testes de força de corte.

Ao Professor Doutor Rui Bessa e Doutora Susana Alves pela disponibilização do equipamento e pelos ensinamentos essenciais à realização das análises de Cromatografia Gasosa e à interpretação dos cromatogramas.

À Professora Doutora Beatriz Oliveira da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, onde foram realizadas as análises de Cromatografia, que permitiram a determinação dos teores de vitamina E.

Ao Dr. Luís Santana Correia, pela disponibilização dos meios e dos recursos financeiros que permitiram a realização do estudo, por todo o conhecimento que me tornou melhor profissional e pela amizade demonstrada.

Ao meu amigo de sempre, João, pela amizade, apoio e incentivo cujas palavras são escassas para agradecer.

Aos meus amigos Tiago, Pedro e Gonçalo pelo último ano de faculdade fantástico que me proporcionaram com a sua amizade.

Ao José Nuno pelas constantes palavras de incentivo e amizade.

Ao Rafa, Pedro e Small, amigos para a vida que ganhei neste percurso, por todos os momentos que partilhamos juntos e por terem contribuído para esta ter sido uma “viagem” especial.

À Vanda, minha irmã mais nova, por me conhecer tão bem e ter sempre uma palavra fácil de apoio e carinho.

Ao Pêpê, meu irmão mais velho, por todos os conselhos sábios que me deu, pelo apoio, amizade e carinho sempre demonstrados.

Aos meus patudos Yuka e Maggie pela companhia.

À Mariana, minha companheira para sempre, por todo o amor, carinho, respeito e amizade, pela força e vivacidade que me transmite e pelo sorriso que me coloca nos lábios todos os dias.

E por último mas não menos importante, aos meus pais, cujas palavras nunca serão suficientes para manifestar o meu agradecimento, por me terem permitido e essencialmente ajudado a concretizar este sonho. Tal só foi possível com todo o amor, carinho e apoio que sempre me deram e sobretudo com os avisos e insistências “chatas”.

Um agradecimento especial ao meu pai, cujo apoio em diversas tarefas foi um pilar fundamental para que este trabalho pudesse ter sido realizado.

O meu sincero agradecimento a todas as outras pessoas que de alguma forma influenciaram o meu percurso e me ajudaram a cumprir esta meta final.

Resumo

A deterioração da qualidade da carne ocorre, entre outros fatores, devido à oxidação lipídica e dos pigmentos musculares. A oxidação dos lípidos leva ao desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis e a oxidação dos pigmentos dos músculos torna a carne pouco apelativa ao consumidor no ato de compra, uma vez que afeta negativamente a cor (parâmetro fundamental para a aceitabilidade da carne). Esta deterioração é responsável pelo encurtamento do seu tempo de prateleira. Posto isto, e sendo a vitamina E um antioxidante, este trabalho pretendeu avaliar qual o efeito que a suplementação da dieta com vitamina E e o tempo de maturação tiveram sobre a estabilidade colorimétrica da carne de bovino, mantida em refrigeração (a 4° C) sob condições de atmosfera modificada durante 12 dias.

A amostra foi composta por 240 bifes finos e 40 bifes grossos do músculo *longissimus lumborum* (LL) provenientes de 40 animais cruzados da raça Aberdeen Angus. Dos 40 animais em estudo, 20 receberam uma ração de acabamento suplementada com 2000 miligramas de vitamina E por cada quilograma de ração. Os restantes animais serviram de controlo e foi-lhes fornecida uma ração de acabamento comercial. Foi medido o teor de α - e γ – tocoferol, a cor e o pH dos bifes finos e a força de corte dos bifes grossos.

A carne dos animais que foram alimentados com ração suplementada apresentou níveis significativamente maiores de α -tocoferol muscular e menores taxas de decréscimo ao longo do tempo em prateleira comparativamente à carne dos animais controlo. O mesmo se verificou na medição da cor, em que o parâmetro colorimétrico de intensidade de vermelhos apresentou maiores valores e menor taxa de decréscimo. Assim, os resultados apresentados neste estudo são conducentes de que a suplementação da dieta com vitamina E melhora significativamente a estabilidade oxidativa da carne de bovino.

Palavras-chave: Aberdeen Angus; carne; tempo de prateleira; estabilidade colorimétrica; cor; ração; vitamina E.

Abstract

The deterioration of the meat quality occurs, among other factors, due to both the lipid as well as the muscular pigments oxidation. The lipid's oxidation leads to unpleasant odours and taste, and the oxidation of muscular pigments negatively affects the colour (fundamental parameter to meat's acceptability) making meat unappealing to the consumer when buying. Ultimately, such deterioration is responsible for the reduction of the shelf life time. Consequently, and being vitamin E an antioxidant, this study intended to evaluate the effect that the diet supplementation with vitamin E as well as the meat aging had on the colorimetric stability of beef, kept in refrigeration at 4°C and under modified atmospheric conditions throughout 12 days.

The study sample was constituted of 240 finely sliced steaks and 40 largely sliced steaks all from the *longissimus lumborum* (LL) muscle of 40 different Angus crossbreed animals. In the 40 animals there were 20 included whose diet was supplemented with 2000 milligrams of vitamin E per kilogram of feed, being the rest of the animals used as a control group and whose diet was unchanged. The levels of α - γ - tocopherol, colour and pH of the finely sliced steaks were measured and the Warner-Blatzer shear force of the largely sliced steaks.

Significantly higher levels of α - tocopherol were found in the meat of the animals in the supplemented group when compared with the control group as well as lower rates of shortening of the shelf life time. A similar result was found in the colour measurement, with higher values of red intensity detected as well as a lower rate of shortening. Therefore, the results presented in this study seem to indicate that the diet supplementation with vitamin E significantly improves the oxidative stability of beef.

Key words: Aberdeen Angus; meat; shelf-life; colorimetric stability; colour; diet; vitamin E.

Índice geral

Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Índice geral	ix
Índice de Figuras	xii
Índice de Tabelas	xiii
Lista de abreviaturas	xv
1. Relatório de estágio.....	1
2. Introdução.....	3
3. Revisão Bibliográfica	5
3.1. Estrutura e composição do músculo	5
3.1.1. A fibra muscular	6
3.1.1.1. Classificação das fibras musculares	7
3.1.2. Tecido conjuntivo e colagénio	9
3.1.3. Tecido adiposo.....	11
3.1.3.1. Lípidos.....	12
3.2. Transformação do músculo em carne	13
3.2.1. Modificações físicas	13
3.2.1.1. Variações da dureza muscular.....	13
3.2.1.2. Variações do pH.....	15
3.2.2. Modificações bioquímicas	17
3.2.3. Modificações estruturais	17
3.2.4. A maturação da carne.....	18
3.3. Qualidade da carne.....	18
3.4. Qualidade sensorial da carne	20
3.4.1. Parâmetros sensoriais mais apreciados pelos consumidores.....	20
3.4.2. Cor	21
3.4.2.1. A importância da cor para o consumidor	23

3.4.2.2.	Fatores que influenciam a cor da carne.....	23
3.4.3.	Tenrura	24
3.4.4.	Suculência da carne.....	25
3.4.5.	<i>Flavour</i> da carne	26
3.5.	Qualidade nutricional da carne	27
3.5.1.	Teor em água e sua capacidade de retenção	27
3.5.2.	Teor de proteína e qualidade da proteína da carne de bovino	29
3.5.3.	Teor de colesterol.....	29
3.5.4.	β -caroteno	30
3.5.5.	Vitamina E	31
4.	Material e Métodos.....	34
4.1.	Material biológico	34
4.1.1.	Animais.....	34
4.1.2.	Alimento concentrado	35
4.1.3.	Abate dos animais	36
4.1.4.	Recolha das amostras	37
4.1.5.	Preparação das amostras.....	38
4.2.	Determinação de parâmetros físico-químicos da carne.....	39
4.2.1.	Determinação do pH.....	39
4.2.2.	Determinação da cor.....	39
4.2.3.	Determinação da força de corte (WBSF test)	40
4.2.4.	Determinação dos teores de vitamina E	42
4.2.4.1.	Processo de saponificação e extração	43
4.2.4.2.	Análise por Cromatografia líquida de alta performance (HPLC).....	44
4.2.4.3.	Análise	44
4.3.	Análise estatística.....	45
5.	Resultados.....	46
5.1.	pH.....	46

5.2. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação da carne sobre os teores de α - e γ - tocoferol da carne	46
5.3. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre os teores de α - e γ - tocoferol da carne	48
5.4. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação da carne sobre a força de corte	49
5.5. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino	50
5.6. Efeito do tempo de maturação e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino	51
5.7. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino	52
6. Discussão	54
6.1. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação sobre os teores de α - e γ - tocoferol da carne	54
6.2. Efeito da suplementação da dieta e do tempo em prateleira nos teores de α - e γ - tocoferol da carne.....	55
6.3. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação sobre a força de corte da carne	56
6.4. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino	57
6.5. Efeito do tempo de maturação e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino	58
6.6. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino	59
7. Conclusão	60
8. Bibliografia	61

Índice de Figuras

Figura 1 – Ilustração esquemática da organização do tecido muscular esquelético (adaptado do site: quizlet.com).....	5
Figura 2 - Ilustração esquemática da organização da fibra muscular esquelética (adaptado do site: fisioexefi2013.blogspot.pt).....	6
Figura 3 - Esquema da associação entre tecido conjuntivo e músculo esquelético (adaptado do site droualb.faculty.mjc.edu).....	10
Figura 4 - Variação do pH no <i>longissimus lumborum</i> nas primeiras 24h post mortem de 15 novilhos (Adaptado de Warriss, 2010).	15
Figura 5 - Fatia correspondente a um corte transversal de uma peça do redondo de bovino, na qual se podem observar os diferentes tipos de mioglobina (adaptado do site www.esebertus.com).	21
Figura 6 - Representação tridimensional do sistema CIE (adaptado do site www.fhwa.dot.go).	23
Figura 7 - Esquema da divisão muscular e os diferentes locais de armazenamento da água na fibra muscular (Pearce <i>et al.</i> , 2011).	28
Figura 8 - Estrutura química da vitamina E (adaptado de Quaresma <i>et al.</i> , 2008).	31
Figura 9 - Alguns exemplos dos animais constituintes dos dois grupos experimentais no dia em que se iniciou o trabalho experimental (fotografias originais).	
Figura 10 - Constituição da ração fornecida aos animais (fonte: Provimi®).	35
Figura 11 - Meias carcaças após o seccionamento (à esquerda) e encaminhamento para a câmara frigorífica (fotografias originais).	
Figura 12 - Amostras após homogeneização (fotografia original).	38
Figura 13 - Determinação do pH através de um potenciómetro (fotografia original).	39
Figura 14 - Mesuração objetiva da cor com a utilização de um colorímetro (fotografia original).	40
Figura 15 - Bifes a cozinhar na grelha (esquerda) e verificação da temperatura interna (direita) (fotografias originais).	41

Figura 16 - Secção de um bife em 10 tiras de 1 cm ² (esquerda) e utilização do analisador de texturas (direita) (fotografias originais).	41
Figura 17 - Representação gráfica do valor percentual de α - e γ -tocoferol no teor total de vitamina E.....	47
Figura 18 - Representação gráfica do valor percentual de α - e γ -tocoferol no teor total de vitamina E e do seu decréscimo ao longo dos dias em prateleira.	49
Figura 19 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre a intensidade de vermelho.....	53

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Caraterísticas biológicas de cada tipo de fibra muscular (adaptado de Lefaucheur, 2010).	8
Tabela 2 - Análise estatística descritiva dos valores de pH em carne não maturada e maturada.	46
Tabela 3 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e o efeito da maturação nos teores dos principais homólogos da vitamina E na carne de bovino.	47
Tabela 4 - Efeito da suplementação de vitamina E na dieta e do tempo em prateleira sobre os teores dos principais homólogos da vitamina E na carne de bovino.	48
Tabela 5 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação na força de corte da carne de bovino.	50
Tabela 6 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação nos parâmetros colorimétricos da carne de bovino.	50
Tabela 7 - Efeito do tempo de maturação e do tempo em prateleira a que a carne foi sujeita sobre os parâmetros colorimétricos do músculo <i>longissimus lumborum</i>	51
Tabela 8 - Efeito que a suplementação da dieta com vitamina E e que o tempo em prateleira a que a carne é sujeita têm sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino.	52
Tabela 9 - Comparação de valores colorimétricos do presente estudo com o estudo de Ismail <i>et al.</i> , (2008).	59

Lista de abreviaturas

a [*]	Intensidade de vermelho
ATP	Adenosina Trifosfato
a _w	Atividade de água
b [*]	Intensidade de amarelo
C [*]	Intensidade ou saturação de cor
CIE	<i>Commission internationale de l'éclairage</i> / Comissão internacional de iluminação
CO ₂	Dióxido de carbono
CP	Creatine Chosphate/ Fosfocreatina
DesoxiMb	Desoximioglobina
DFD	<i>Dark, Firm and Dry</i> / Escura, Firme e Seca
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
h [*]	Ângulo de tonalidade
INE	Instituto Nacional Estatística
L [*]	Luminosidade
LL	Músculo <i>longissimus lumborum</i>
MbO ₂	Oximioglobina
MetaMb	Metamioglobina
n	Número de animais
O ₂	Oxigénio
OIE	International Office of Epizootics
P _i	Fósforo inorgânico
pH _u	pH <i>utlimate</i> / pH Final
PSE	<i>Pale, soft, exudative</i> / Pálida, mole e exudativa
Rpm	Rotações por minuto
SH ₂	Sulfeto de Hidrogénio

UI	Unidades Internacionais
WBSF	<i>Warner Bratzler Shear Force</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
µg	Micrograma
µl	Microlitro
µm	Micrómetro

1. Relatório de estágio

A fim de cumprir os requisitos finais do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, efetuei um estágio na área de produção e alimentação animal, sob orientação do Prof. Doutor Mário Quaresma (docente da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa) e co-orientação do Dr. Luís Santana Correia (departamento de *sourcing* de talho do Grupo Jerónimo Martins).

O estágio teve lugar na cadeia de distribuição alimentar da empresa Jerónimo Martins, particularmente na secção de *sourcing* de talho do Pingo Doce, e teve a duração aproximada de 8 meses, entre 20 de setembro de 2013 e 30 de Abril de 2014.

Os principais objetivos do estágio passaram pela contextualização da produção animal, aprendizagem dos procedimentos inerentes à transformação de carne em produtos alimentares e pela integração nas restantes competências do departamento de *sourcing* de carne do Pingo Doce. Assim, o estágio na empresa Jerónimo Martins permitiu o desenvolvimento e participação em diversas áreas e atividades, tais como:

- Acompanhamento de visitas técnicas e vistorias a produtores nacionais de bovinos, suínos e pequenos ruminantes para aprovação ou renovação de fornecedores;
- Acompanhamento de visitas de auditoria a fornecedores;
- Aprendizagem e contextualização legislativa de trabalho com fornecedores, prestadores de serviços e clientes;
- Visitas a matadouros e acompanhamento de toda a cadeia de inspeção sanitária de abate de bovinos, suínos e pequenos ruminantes;
- Visita a centro de desmancha e acompanhamento de todo o processo de transformação desde carcaça animal a produto alimentar;
- Acompanhamento e apoio à rotina do dia-a-dia, durante sete dias, (alimentação, pesagens, brincagens, limpeza, importação/exportação e vacinação) de um centro de engorda de borregos sediado no Fundão;
- Acompanhamento de operações de receção, execução e expedição do sector de controlo da qualidade e segurança da carne.

Como projeto final, sob a alçada do meu orientador e co-orientador, decidi fazer um estudo que englobasse a área sobre a qual estagiei e da qual tenho muito apreço. Desse estudo resultou a minha dissertação de mestrado em Medicina Veterinária.

Assim sendo, a presente dissertação contempla um estudo para o qual foi feito um protocolo de parceria entre o Pingo Doce a Provimi e um produtor nacional de bovinos de raça Angus.

Para a realização do estudo, desloquei-me diversas vezes à Herdade da Defesa, sediada em Estremoz, de forma a seleccionar e posteriormente acompanhar o acabamento dos animais seleccionados.

Foi necessária a observação e participação ativa no abate dos animais, o qual ocorreu no matadouro de Santarém (Santacarnes) e na desmancha dos mesmos, ocorrida no centro de desmancha da Montalva em Torres Novas (Montebravo), de forma a poder proceder à recolha de amostras essenciais ao estudo.

Para o processamento e análise das amostras foram necessárias 6 semanas de trabalho nos laboratórios dos departamentos de Bioquímica e Tecnologia Alimentar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

2. Introdução

Tendo como gosto pessoal a área da produção animal e toda a indústria inerente, com particular foco na valorização de produtos animais e indústria cárnea, procurei a realização de um estágio que a contemplasse. O estágio realizado no Grupo Jerónimo Martins permitiu o contacto com os diferentes estratos da cadeia de produção e comercialização da carne e produtos cárneos. Deste contacto surgiram as ideias para o estudo que resultou nesta dissertação.

O mercado nacional de carne apresenta algumas particularidades que revelam, a diferentes níveis, um atraso técnico/ideológico comparativamente a outros países Europeus.

O alimento concentrado utilizado em Portugal para o acabamento de bovinos, está essencialmente orientado para as necessidades nutricionais dos animais e para a obtenção de elevados índices zootécnicos, estando pouco adequado às necessidades do retalhista e à valorização de produtos animais. A não suplementação do concentrado, usado para o acabamento de bovinos de carne, com vitamina E é um exemplo de desajuste presente entre a produção e as necessidades comerciais. Esta ausência pode ser justificada pelo fato da suplementação da dieta com vitamina E ser vista pelo produtor apenas como um acréscimo no custo do alimento concentrado e, por não existir até à data, exigências nesse sentido das grandes cadeias de distribuição.

Outra lacuna presente na comercialização da carne de bovino em Portugal é a ausência de utilização ou uma utilização pouco assídua de processos de maturação da carne.

Recentemente, o Grupo Jerónimo Martins apostou na melhoria da qualidade sensorial da carne produzida e comercializada em Portugal, e com esse objectivo incentivou à produção de bovinos cruzados ou puros da raça Aberdeen Angus (raça com estatuto de possuir carne mais tenra e succulenta) junto do seu grupo de produtores. Paralelamente apostou na maturação da carne desta raça com um tempo de maturação a seco de 7 dias.

Num País habituado à hegemonia das raças francesas (Limousine, Charolais e Sallers), usadas em raça pura ou mais frequentemente em cruzamento com raças autóctones, a introdução de reprodutores de raça Aberdeen Angus, e o estímulo à produção de animais cruzados de Aberdeen Angus levantou alguma polémica e fomentou desconfiança e discussão junto dos produtores.

Face ao anteriormente exposto foi decidido realizar um estudo que teve como principais objetivos avaliar qual o efeito que a suplementação da dieta de acabamento com vitamina E teve sobre a estabilidade da cor da carne de bovinos da raça Aberdeen Angus mantida em prateleira sob condições de refrigeração e de atmosfera modificada durante 12 dias e ainda avaliar qual o efeito da maturação sobre a tenrura da carne.

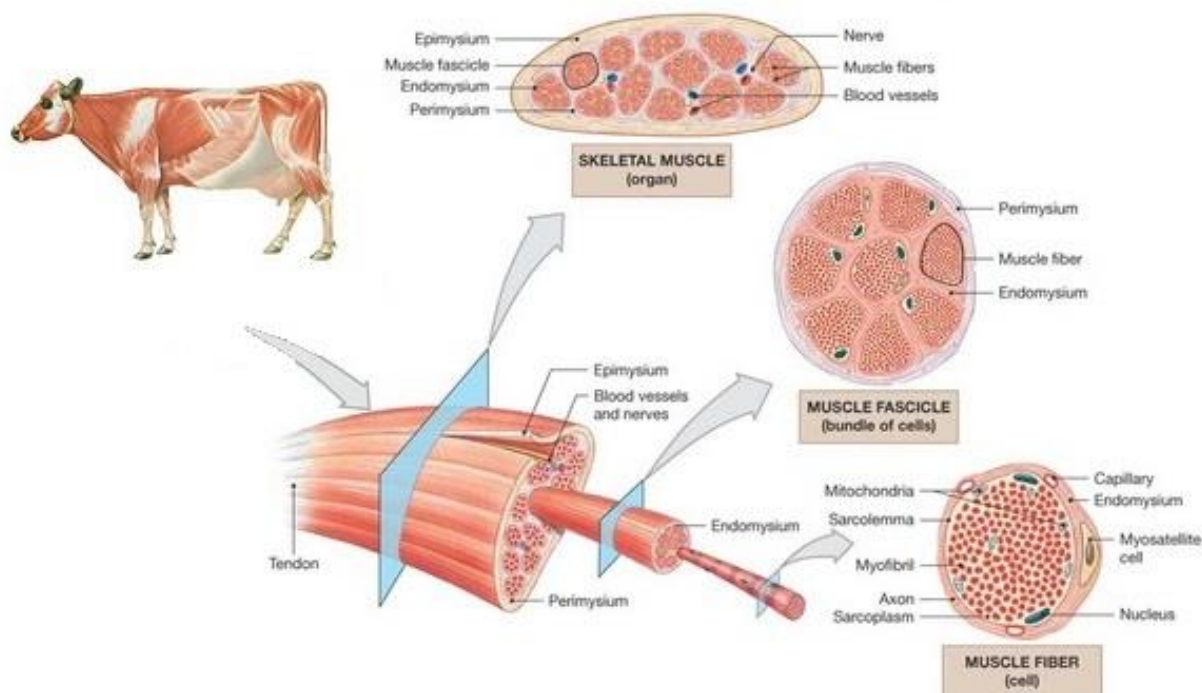
3. Revisão Bibliográfica

3.1. Estrutura e composição do músculo

O tecido muscular dos mamíferos pode ser diferenciado, de acordo com as suas características morfológicas e funcionais, em 3 tipos: tecido muscular liso, tecido muscular esquelético e tecido muscular cardíaco. Por ordem de interesse, neste trabalho, apenas será abordado o tecido muscular esquelético, pois este dá origem à carne após a morte do animal. O tecido muscular esquelético é composto por células cilíndricas longas e multinucleadas que apresentam estriações transversais e possuem contração rápida e voluntária (Junqueira & Carneiro, 2004).

O músculo esquelético tem uma constituição heterogênea e possui uma arquitetura complexa (Figura 1). É composto por diversos tipos de tecidos e células, onde figuram fibras musculares, células conjuntivas (ex. fibroblastos e adipócitos), células vasculares e nervosas. Em termos da sua composição proximal, e em termos médios, é constituído por 75% de água, 19% de proteína, 0,5 - 8% de lípidos e 1% de glicogénio (Lefaucheur, 2010).

Figura 1 – Ilustração esquemática da organização do tecido muscular esquelético (adaptado do site: quizlet.com).

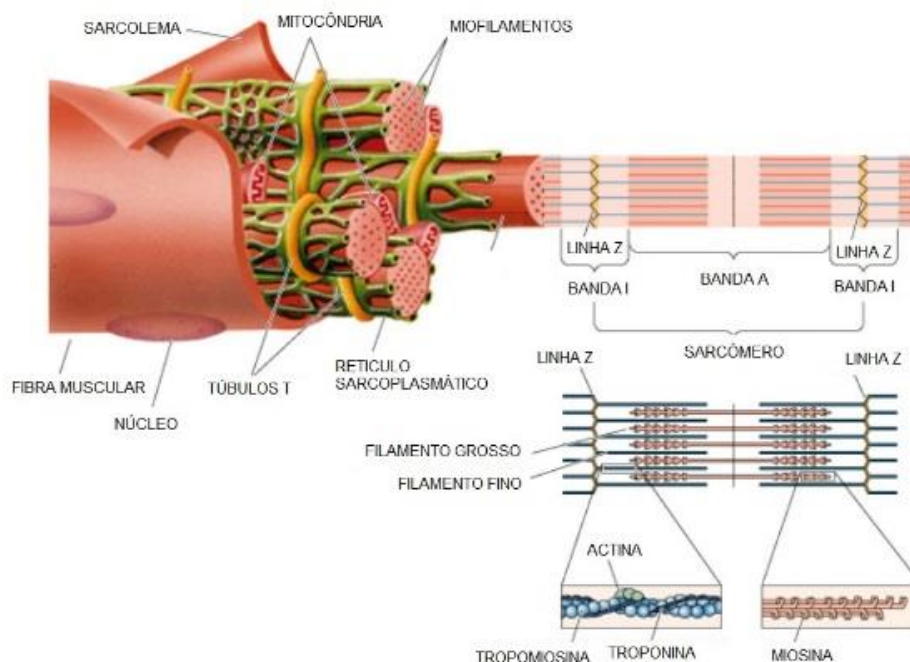


3.1.1. A fibra muscular

As fibras musculares, cientificamente denominadas por miofibras, abrangem 75-90% do volume muscular, são compostas por longas (até 30 cm) células cilíndricas e contráteis que apresentam estriação transversal. São multinucleadas (os núcleos encontram-se localizados perifericamente), fato que se deve à sua formação ocorrer por fusão dos mioblastos (células embrionárias precursoras das fibras musculares) durante o desenvolvimento fetal (Lefaucheur, 2010). O seu diâmetro varia entre 10 e 100 μm , podendo apresentar variações consideráveis de calibre ainda que dentro do mesmo músculo. Alguns organelos celulares da fibra muscular esquelética apresentam um elevado grau de diferenciação e características próprias, pelo que receberam nomes especiais, a saber: a miofibrila é delimitada pelo sarcolema que é o nome dado à membrana plasmática, ao citoplasma dá-se o nome de sarcoplasma e o retículo sarcoplasmático equivale na fibra muscular ao retículo endoplasmático (Lee, Joo & Ryu, 2010).

O sarcômero é a unidade estrutural da fibra muscular, encontra-se situado entre duas linhas Z e no seu centro dispõe-se uma banda escura A (anisotrópica em luz polarizada), que contém filamentos grossos bipolares compostos por miosina e proteínas associadas (Clark, McElhinny, Beckerle & Gregorio, 2002) e que é ladeada por duas meias bandas I (isotrópicas em luz polarizada).

Figura 2 - Ilustração esquemática da organização da fibra muscular esquelética (adaptado do site: fisioexefi2013.blogspot.pt).



A miofibrila, responsável pela contração do músculo, é uma estrutura cilíndrica com 1-2 µm de diâmetro, disposta paralelamente ao eixo maior da fibra muscular, que consiste no arranjo sistemático de sarcômeros. Dispostos longitudinalmente nas miofibrilas e organizados numa distribuição simétrica e paralela estão dois sistemas de filamentos: os filamentos grossos de miosina e os filamentos finos de actina, troponina e tropomiosina (Figura 2) (Junqueira & Carneiro, 2004).

3.1.1.1. Classificação das fibras musculares

As fibras musculares esqueléticas são muito heterogêneas, consequência da sua grande especialização, o que constitui a base da sua plasticidade funcional. Podem ser atribuídas várias classificações de acordo com as suas características metabólicas, moleculares, estruturais e contráteis, nomeadamente: fibras do tipo I, tipo IIa e tipo IIb (Brooke & Kaiser, 1970).

Existem vários fatores que influenciam a categorização destes tipos de fibras musculares, nomeadamente a raça, o género, hormonas e a atividade física (Choi & Kim, 2009). Cada tipo de fibra muscular possui diferentes características fisiológicas, metabólicas, morfológicas e contráteis (Tabela 1). A composição das fibras musculares tem forte influência em certos parâmetros sensoriais da carne, nomeadamente na cor, capacidade de retenção de água, tenrura, suculência e sabor (Lefaucheur, 2010).

As fibras do tipo I ou fibras vermelhas são dotadas de uma ampla irrigação sanguínea que associada a uma acrescida eficiência na utilização de oxigénio (Ashmore, Tompkins & Doerr, 1972; Essén-Gustavsson, Karlström & Lundström, 1992), lhes permite sustentar trabalho prolongado de baixa intensidade (Lefaucheur, 2010). A elevada quantidade de energia requerida para esse trabalho é gerada por processos de fosforilação oxidativa, como tal, estas fibras musculares, cuja contração é lenta e contínua, são particularmente ricas em mitocôndrias (Klont, Brocks & Eikelenboom, 1998). São estruturalmente pobres em glicogénio, possuem elevados níveis de mioglobina e triacilgliceróis e são altamente resistentes à fadiga.

Fibras semelhantes às descritas anteriormente, pela presença de um elevado número de mitocôndrias, pela abundante irrigação sanguínea e pelo alto teor de mioglobina (Ashmore, *et al.*, 1972; Essén-Gustavsson *et al.*, 1992), cuja atividade oxidativa predomina, são as fibras do tipo IIa. A principal diferença para as fibras do tipo I é que estas apresentam uma maior eficiência na produção de ATP, maiores reservas de glicogénio e maior capacidade glicolítica

(Klont *et al.*, 1998). Ostentam um tipo de contração intermédio entre as fibras do tipo I e as do tipo IIb.

Em oposição apresentam-se as fibras musculares do tipo IIb, também designadas por fibras brancas, caracterizadas pelo seu baixo teor em mioglobina, pela reduzida irrigação sanguínea (Essén-Gustavsson *et al.*, 1992), pela escassez de mitocôndrias e elevada concentração de glicogénio (Klont *et al.*, 1998). A energia necessária origina-se a partir de processos de glicólise e são recrutadas ocasionalmente para sustentar movimentos violentos de curta duração, cuja contração é rápida (Lefaucheur, 2010).

Klont *et al.* (1998) descrevem uma relação inversa entre a capacidade oxidativa e o diâmetro das fibras. Relativamente a esta característica e sendo as fibras do tipo I as mais oxidativas, as do tipo IIb as menos oxidativas e as do tipo IIa intermédias, correlaciona-se um menor diâmetro para as fibras do tipo I, maior diâmetro para as do tipo IIb, com as fibras do tipo IIa a apresentarem um diâmetro intermédio (Cassens & Cooper, 1971; Rosser, Norris & Nemeth, 1992). O diâmetro da fibra muscular pode ainda influenciar alguns parâmetros bioquímicos como o teor de fosfolípidos e de colesterol (Chizzolini *et al.*, 1999; Dinh *et al.*, 2011).

Tabela 1 - Características biológicas de cada tipo de fibra muscular (adaptado de Lefaucheur, 2010).

	I	IIa	IIb
Velocidade de contração	+ ^A	+++	+++++
Metabolismo oxidativo	+++++	++++	+
Metabolismo glicolítico	+	++++	+++++
Glicogénio	+	+++++	+++++
Triacilgliceróis	+++++	++	+
Vascularização	+++++	+++	+
Mioglobina	+++++	++++	+
Diâmetro	++	+++	+++++
Resistência à fadiga	+++++	++++	+

A - +, muito baixo; ++, baixo; +++, médio; ++++, alto; +++++, muito alto.

3.1.2. Tecido conjuntivo e colagénio

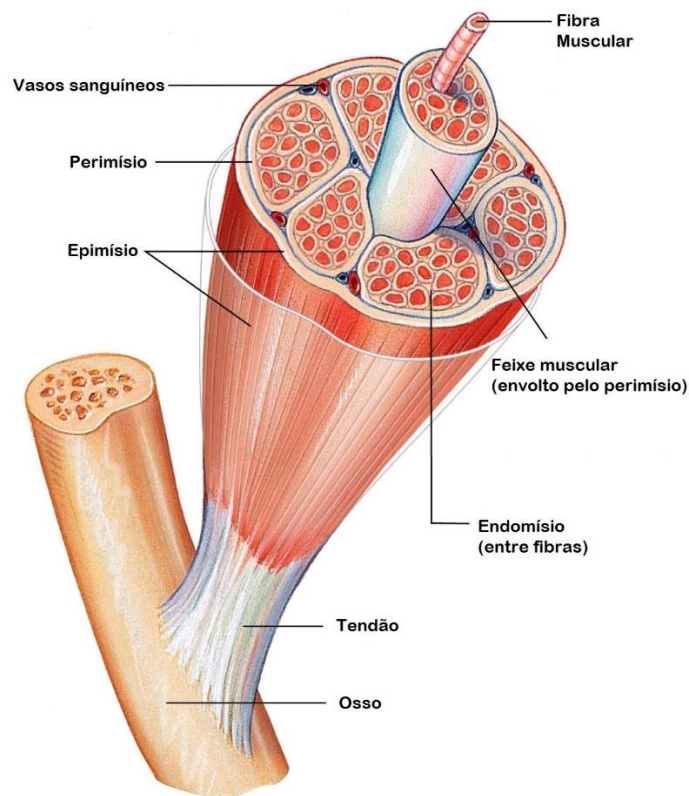
O tecido conjuntivo é constituído por diversos tipos de células (adipócitos, células mesenquimatosas, fibroblastos, macrófagos e linfócitos) e uma abundante matriz extracelular constituída por diferentes proporções de colagénio, elastina, glicoproteínas, proteoglicanos e água (Junqueira & Carneiro, 2012).

Na constituição do músculo estão intimamente associadas as fibras musculares e o tecido conjuntivo. Desta associação resulta a formação de um estroma contínuo composto por camadas que se vão complexando gradualmente, designadas por endomísio (tecido conjuntivo que envolve cada fibra muscular), perimísio (septos de tecido conjuntivo que penetram nas fibras musculares e servem de suporte para a distribuição vascular e nervosa) e epimísio (tecido conjuntivo que envolve o músculo como um todo) (Figura 3). O tecido conjuntivo mantém as fibras musculares unidas, permitindo que a força de contração produzida por cada fibra individualmente atue sobre a totalidade do músculo. O papel do tecido conjuntivo tem grande relevância funcional, uma vez que a maioria das fibras musculares não se estende de uma extremidade à outra do músculo, servindo, assim, como ponte de ligação entre elas. É ainda por intermédio do tecido conjuntivo que a força de contração do músculo se estende a outras estruturas, nomeadamente tendões e ossos (Junqueira & Carneiro, 2004).

Nos bovinos, o tecido conjuntivo é particularmente abundante e tem um papel importante na determinação das propriedades organoléticas da carne, sobretudo na tenrura. O epimísio é facilmente destacável das fibras musculares e, por conseguinte, não constitui um fator de variação da textura. Pelo contrário, o perimísio e o endomísio não se destacam facilmente e juntos formam o tecido conjuntivo intramuscular. Observando-se ao microscópio, o endomísio apresenta uma estrutura de “favo de mel” enquanto o perimísio consiste em espessas camadas de fibras de colagénio (Nishimura, Liu, Hattori & Takahashi, 1998).

O tecido conjuntivo é constituído por três tipos de fibras, todas proteínas fibrosas: colagénio, elastina e reticulina. O tecido conjuntivo intramuscular é maioritariamente constituído por fibras de colagénio (constituindo 55 - 95% ou mais do total das fibras) e de elastina envolvidas por uma matriz de proteoglicanos (Purslow, 2005). Entre músculos, o teor de colagénio, varia muito mais no perimísio do que no endomísio.

Figura 3 - Esquema da associação entre tecido conjuntivo e músculo esquelético (adaptado do site droualb.faculty.mjc.edu).



O colagénio, glicoproteína protagonista na estrutura do tecido conjuntivo, apesar de ter uma estrutura simples, exibe uma diversidade biológica considerável (Bailey & Light, 1989 citado por Monteiro, 2012). É composto por monómeros de tropocolagénio que se agregam para formar fibras alongadas tanto no epimísio como no perimísio e para arquitetar uma matriz estrutural no endomísio (Purslow, 2005).

Podem existir diversas formas genéticas de colagénio no organismo mas no tecido muscular apenas existem algumas. O colagénio do tipo I e III é o mais abundante, enquanto o colagénio do tipo IV, V, VI, XII, XIV, XV e XIX está presente em menor quantidade. O colagénio do tipo I e III encontra-se no perimísio, sendo que no epimísio está presente apenas o tipo I e no endomísio o tipo III, IV e V (Koide & Nagata, 2005; Tornberg, 2005). O colagénio do tipo IV é o principal componente da membrana basal, que liga a camada fibrosa (reticular) do endomísio ao sarcolema.

Os diferentes tipos de colagénio podem ainda ser agrupados em três classes: colagénio fibroso (mais comum); colagénio não fibroso e colagénio filamentosos, o qual está presente em quantidades muito mais pequenas, embora desempenhe um papel muito importante em alguns tecidos específicos (Junqueira & Carneiro, 2004).

Com o crescimento dos animais, as ligações cruzadas de colagénio tornam-se mais estáveis, o que leva a que a integridade do tecido conjuntivo intramuscular aumente. Estas alterações levam a um aumento das propriedades mecânicas do tecido conjuntivo intramuscular, contribuindo para o endurecimento da carne (Nishimura, 2010). Lepetit (2007) demonstrou que a quantidade total de ligações cruzadas de colagénio por volume de carne cozinhada é sensivelmente proporcional à fração de colagénio elástico do tecido conjuntivo, vincando ainda mais a contribuição das ligações cruzadas de colagénio para a dureza da carne.

3.1.3. Tecido adiposo

O tecido adiposo é uma variedade de tecido conjuntivo cujo elemento celular predominante é o adipócito, sendo também constituído por lípidos e água. Durante o crescimento dos animais, a proporção destes três constituintes do tecido adiposo altera-se, o que pode refletir num efeito marcante na qualidade da carne. A proporção de lípidos aumenta com a idade e, consequentemente, o tamanho dos adipócitos (Hocquette *et al.*, 2010). O tecido adiposo pode estar localizado debaixo da pele (gordura subcutânea), entre músculos (gordura intermuscular) e no interior dos músculos (gordura intramuscular) (Schmid, 2011).

Embora a gordura do tecido adiposo consista na sua grande maioria (mais de 99%) em triacilgliceróis, a gordura muscular, como a de outros tecidos metabolicamente ativos, apresenta um teor considerável de elementos estruturais como os fosfolípidos e o colesterol. O perfil de ácidos gordos na carne depende de vários factores, é variável entre espécies animais, embora apresente predominância dos mesmos ácidos gordos (ácidos palmítico, esteárico, oleico e linoleico) (Lawrie & Ledward, 2006).

É um erro comum assumir que gordura intramuscular e marmoreado são o mesmo conceito. Marmoreado é o termo industrial que se utiliza para descrever a aparência de manchas que é devida à deposição de gordura dentro do músculo e designa uma pontuação visual dada à carne, enquanto gordura intramuscular é o teor de gordura da carne medido quimicamente (Warner, Greenwood, Pethick & Ferguson, 2010).

A taxa de acumulação do teor de gordura intramuscular depende da variação do número de adipócitos presentes no músculo, da sua atividade metabólica e do balanço energético (Owens, Gill, Secrist & Coleman, 1995; Hocquette *et al.*, 2010).

A gordura intramuscular presente na carne de bovino encontra-se predominantemente localizada nos adipócitos distribuídos no perimísio que envolve os feixes de fibras musculares (Oddy, Harper, Greenwood & McDonagh, 2001). Em menor quantidade, a gordura aparece também dentro da própria fibra muscular (a título de reserva energética), principalmente nas fibras musculares do tipo I e em menor quantidade nas fibras musculares do tipo IIa (Lefaucheur, 2010).

3.1.3.1. Lípidos

A fração lipídica presente na carne pode ter um papel estrutural ou de reserva. Os lípidos estruturais são compostos essencialmente por fosfolípidos e colesterol (componentes essenciais das membranas celulares e subcelulares), enquanto os lípidos de reserva energética, são constituídos essencialmente por triacilgliceróis (presentes dentro/entre fibras musculares e/ou dentro/entre diferentes músculos) (Lefaucheur, 2010). A carne apresenta um teor variável de lípidos que depende de diversos fatores, sejam eles intrínsecos ou extrínsecos ao próprio animal, tais como, espécie animal, idade, raça, sistema de produção aplicado e a condição corporal do animal no momento do abate) (Chizzolini, Zanardi, Dorigoni & Ghidini, 1999; Dinh *et al.*, 2011).

Os triacilgliceróis representam mais de 90 % dos lípidos do tecido adiposo e são constituídos por ésteres de ácidos gordos e gliceróis, que são o constituinte maioritário dos adipócitos (Monteiro, 2012). Os fosfolípidos têm como elemento fundamental da sua estrutura os ácidos gordos (Belitz, Grosh & Schieberle, 2009) e a sua proporção é moderadamente constante. A contribuição de fosfolípidos para o total de gordura intramuscular é variável (Monteiro, 2012). A composição dos fosfolípidos membranares é geneticamente regulada, pois a sua composição é essencial à fluidez e funcionamento das membranas celulares enquanto os triacilgliceróis reflectem a composição da dieta. Os ácidos gordos provenientes dos fosfolípidos apresentam um grau de insaturação superior ao dos triacilgliceróis, e são por essa razão os mais suscetíveis à oxidação lipídica.

O tipo de fibra muscular impõe variações não só no teor de lípidos mas também ao nível da sua composição, nomeadamente no teor de fosfolípidos e triacilgliceróis (Chizzolini *et al.*, 1999). O

nível de triacilgliceróis é elevado em fibras do tipo I, moderado em fibras do tipo IIa e muito baixo em fibras do tipo IIb (Malenfant *et al.*, 2001).

Pode ser ainda considerado que existem vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) e uma série de esteróis, no qual se encontra o colesterol. Estes constituintes da fração lipídica, nomeadamente vitamina E e colesterol serão abordados posteriormente.

3.2. Transformação do músculo em carne

A designação de carne refere-se ao tecido muscular esquelético dos animais após o abate, no período *post-mortem*, quando se perde a homeostase muscular (por falência do sistema circulatório, o abastecimento de nutrientes e oxigénio aos músculos é cessado) e se iniciam alterações físico-bioquímico-estruturais. Estas modificações caracterizam a diferenciação entre o conceito de carne e músculo e afetam a qualidade da carne (Tornberg, 2005).

3.2.1. Modificações físicas

As principais alterações físicas a que o tecido muscular esquelético está sujeito no período *post-mortem* são variações na dureza muscular, no pH e na pressão osmótica (Prates, 2000). Nesta revisão, apenas serão abordadas as variações de tenrura e pH uma vez que apenas esses parâmetros foram avaliados no trabalho experimental.

3.2.1.1. Variações da dureza muscular

No tecido muscular esquelético podem ser observadas três fases distintas no período *post-mortem*, cuja classificação é baseada na variação da sua dureza muscular: a fase de *pre-rigor mortis* (pré-rigidez cadavérica), caracterizada por não haver qualquer alteração significativa na dureza muscular; a fase de *rigor mortis* (rigidez cadavérica) que se representa por um elevado aumento da dureza muscular e a fase de *post-rigor mortis*, cujos valores de dureza muscular diminuem e se encontram similares aos existentes na altura do abate (Prates, 2000).

A fase de *pre-rigor mortis*, que sucede imediatamente após a morte do animal, tem uma duração que pode ir de 20 a 30 minutos (Sentandreu, Coulis & Ouali, 2002). É caracterizada por inalteração da tenrura muscular e pela presença de contrações musculares induzidas por estímulos nervosos descontrolados (Ouali, Demeyer & Raichon, 1992; Tornberg, 1996). Esta fase prevalece enquanto o tecido muscular dispuser de fosfocreatina (CP). O nível de adenosina trifosfato (ATP) mantém-se constante por ressíntese a partir da CP, que no momento do abate existe no tecido muscular esquelético numa concentração aproximada de 20 mmol/l. Uma vez que o ATP não é apenas a fonte direta de energia, mas também o agente “plasticizante” da contração muscular, o tecido muscular esquelético em *pre-rigor mortis* mantém a sua tenrura, extensibilidade e contratilidade (Prates, 2000).

A fase de *rigor mortis* é caracterizada não só (mas essencialmente) por um aumento da dureza muscular, como também por uma diminuição da extensibilidade e contractilidade do músculo. Verifica-se ainda nesta fase uma diminuição da capacidade de retenção de água na carne. O início desta fase está diretamente relacionado com os níveis de ATP. Com o esgotamento da CP (final da fase de *pre-rigor mortis*) os níveis de ATP vão sendo gradualmente consumidos por necessidades metabólicas do tecido muscular, nomeadamente a atividade não contrátil da miosina que opera no sentido de tentar manter o calor corporal e a integridade estrutural das células musculares (Lawrie, 1981). O esgotamento gradual dos níveis de ATP conduz a uma carência que por sua vez está associada à combinação irreversível dos filamentos grossos de miosina com os filamentos finos de actina, resultando desta forma na formação de complexos de actomiosina e no encurtamento dos sarcómeros (Huff Lonergan, Zhang & Lonergan, 2010). A formação de actomiosina está na base do aumento da dureza muscular e na diminuição da contração, extensibilidade e capacidade de retenção de água (Lawrie & Ledward, 2006). O aumento da dureza muscular, durante a fase de *rigor mortis*, está diretamente dependente do encurtamento dos sarcómeros das fibras musculares. Esse fenómeno é variável na sua extensão e velocidade, dependendo do tipo de músculo, espécie animal e condições de refrigeração (Sentandreu *et al.*, 2002).

A duração da fase de *rigor mortis* pode ser alterada segundo alguns processos tecnológicos, nomeadamente: estimulação elétrica das carcaças (reduz para cerca de quatro horas a fase de *rigor mortis* na carne de bovino) e armazenamento das carcaças com arrefecimento moderado, a fim de evitar o encurtamento pelo frio (Hwang, Devine & Hopkins, 2003).

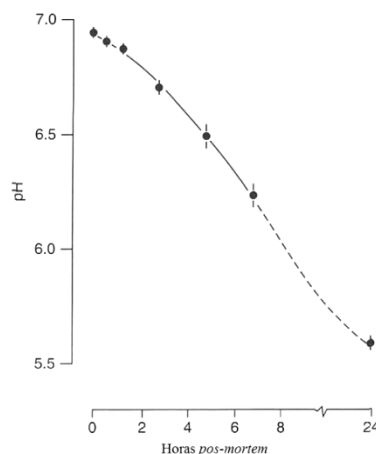
A fase de *post-rigor mortis*, momento em que a dureza muscular diminui, encontra-se dependente de vários fatores de ordem tecnológica, biológica e física que podem ser

classificados cronologicamente em três grupos: fatores *ante-mortem* (espécie animal, raça, idade e sexo); fatores relacionados com o abate do animal (condições de transporte para o matadouro, *stress* e condições de permanência na abegoaria) e fatores *post-mortem* (tempo e temperatura de maturação e estimulação elétrica) (Ouali, 1990).

3.2.1.2. Variações do pH

Durante o desenvolvimento do *rigor mortis*, a falta da via oxidativa promove a que as células musculares favoreçam a via glicolítica anaeróbia, o que conduz à produção de piruvato e à sua consequente conversão em lactato. Este tende a acumular-se nas células musculares, o qual está associado à queda dos valores de pH muscular de cerca de 7,0 para, em condições normais, valores próximos de 5,5 (Lefaucheur, 2010) (Figura 4). Tal fato não acontece no animal vivo, pois neste o lactato é transportado para o fígado, onde é convertido via piruvato em glicose (Lawrie, 1981).

Figura 4 - Variação do pH no *longissimus lumborum* nas primeiras 24h post mortem de 15 novilhos (Adaptado de Warriss, 2010).



A velocidade de queda do pH varia consideravelmente consoante a espécie animal (Dransfield, Jones & MacFie, 1981; Dransfield, Bechet & Ouali, 1994). Assim sendo, na carne de bovino, a descida dos valores de pH demora entre 15 e 36 horas, sendo a medição feita às 24 horas *post mortem*, dando-se a esta o nome de pH *ultimate* (pH_u) ou pH definitivo (Villarroel, María, Sañudo, Olleta & Gebresenbet, 2003; Mach, Bach, Velarde & Devant, 2008; Warriss, 2010).

Ao ser investigada a descida dos valores de pH, além da concentração de glicogénio é necessário ter também em conta a capacidade tampão¹ dos tecidos.

A queda dos valores de pH tem dois componentes de elevada importância para a maturação e qualidade da carne, nomeadamente o valor de pH_u (potencial glicolítico) e a velocidade a que ocorre a queda deste valor de pH (velocidade glicolítica) (Touraille, 1991; Valin & Ouali, 1992; Pearson, 1994). Esta velocidade encontra-se mais estreitamente dependente do *turnover* de fósforo inorgânico (Pi), estequiometricamente relacionado com a velocidade de formação de hidrogeniões, do que com o turnover de ATP e a atividade ATPásica. A velocidade glicolítica para além de ser condicionada pela espécie animal, está diretamente relacionada com a velocidade de contração muscular e com a temperatura da carne logo após o abate (Renou, Canioni, Gatelier, Valin & Cozzone, 1986; Ouali, 1991). Por esta razão quando se pretende comparar valores de pH_u a um intervalo fixo pós-abate, é necessário que todas as carcaças sejam sujeitas às mesmas condições de frio (Warriss, 2010).

A acidificação do músculo *post mortem* (potencial glicolítico) está dependente da concentração muscular de glicogénio, ATP e glúcidos fosfatados. O potencial glicolítico, para além de variar muito com a espécie animal, varia também com o tipo de fibra muscular, sendo consideravelmente maior nas fibras musculares do tipo II (Ouali, 1991).

Quanto mais glicogénio for esgotado antes do abate, menor será a quantidade de lactato formado posteriormente. Por conseguinte, o potencial glicolítico não permite uma acidificação suficiente da carne, o que resultada numa desnaturação das proteínas inferior ao normal, formando-se uma pequena ou nenhuma quantidade de exsudado. Desta forma, o músculo torna-se uma estrutura fechada e translúcida, que absorve luz em vez de a refletir. Por falta de oxigenação para além da fina camada superficial vermelho-brilhante de oximioglobina (MbO₂), a carne assume a cor púrpura (escura) (Abril *et al.*, 2001; Warriss, 2010).

As carnes resultantes de músculos com as alterações acima descritas, com cor escura, firmes e secas são designadas de DFD (*Dark, Firm and Dry*), permitindo o pH definir objetivamente esta condição, sendo o valor de 6,0 a barreira de pH estabelecida no músculo *longissimus lumborum* (Van de Water, Verjans & Geers, 2003; Apple *et al.*, 2006; Mach *et al.*, 2008).

¹ A capacidade tampão é a capacidade que um sistema tem de resistir à variação de pH quando lhe é adicionado um ácido ou uma base forte.

As carcaças com pH superior a 5,8 são desvalorizadas em cerca de 10% pelo mercado. Apesar de não ser definido como limite para carnes DFD, é considerado como valor máximo desejável (Klont *et al.*, 1999; Immonen, Ruusunen, Hissa & Puolanne, 2000; Grandin & Tarrant, 2000).

Uma carne que possua valores de pH normais apresenta um reduzido desenvolvimento microbiano devido ao pH menor que 5,8 e pela normal exsudação que promove uma desidratação da camada externa da carne, esta desidratação conduz a uma actividade da água (a_w) inferior à que ocorre nas carnes DFD. A conjugação de um pH e uma a_w elevados, característico das carnes DFD, permite um maior desenvolvimento microbiano. Em condições de aerobiose crescem principalmente *Acinetobacter spp* e *Shewanella putrefaciens*. No caso de estas carnes serem embaladas a vácuo ocorre o crescimento de *Shewanella putrefaciens* e *Enterobacteriaceae* tolerantes ao frio. Devido à reação do sulfeto de hidrogénio (SH_2) com a mioglobina e à formação da sulfomioglobina, surgem maus cheiros e cor verde na carne (Newton & Gill, 1981; Moreno, 2006; Warriss, 2010).

3.2.2. Modificações bioquímicas

As principais alterações bioquímicas a que o tecido muscular esquelético está sujeito no período *post-mortem* são uma degradação considerável das proteínas sarcoplasmáticas (que representam 30 a 35% das proteínas musculares) e de algumas proteínas citoesqueléticas (50 a 60% das proteínas musculares). As principais proteínas do tecido conjuntivo, o colagénio e a elastina (10 a 20% das proteínas musculares) não sofrem fragmentação durante o período *post-mortem* nas condições habituais de refrigeração (Lawrie, 1998; Ouali *et al.*, 1992).

3.2.3. Modificações estruturais

As principais alterações estruturais a que o tecido muscular esquelético está sujeito no período *post-mortem*, ocorrem ao nível das estruturas do citoesqueleto da fibra muscular esquelética, são: o alongamento dos sarcómeros; a perda de densidade das linhas M; a degradação das linhas Z; o aparecimento de fissuras longitudinais nas miofibrilas e a perda do alinhamento transversal das miofibrilas, ao nível das linhas M e Z (Quali, 1992; Taylor, Geesink, Thompson, Koohmaraie & Goll, 1995).

3.2.4. A maturação da carne

Apesar da fase de maturação ter sido frequentemente encarada como a fase final da transformação do músculo em carne (fase de *post-rigor mortis*), que consiste na hidrólise de algumas proteínas musculares por ação enzimática, tendo como consequência, em termos alimentares, uma melhoria da tenrura e do desenvolvimento do *flavour*, atualmente, tal não se considera totalmente adequado porque, de fato, por maturação é comumente entendida a prática de armazenamento da carne não processada, acima do seu ponto de congelamento (-1,5°C), (Lawrie, 1998). Muito embora a velocidade de maturação se encontre diretamente relacionada com a temperatura de acondicionamento, a maturação efetua-se normalmente a temperaturas habituais de refrigeração (entre 0 e 4°C), por razões de higiene microbiológica (Prates, 2000). Optam-se por estas temperaturas de armazenamento porque temperaturas elevadas, apesar de diminuir o tempo de maturação, estão relacionadas com o aparecimento precoce de putrefação.

O processo de maturação da carne pode ocorrer de duas formas: maturação a seco (*dry aging*) e maturação em húmido (*wet aging*). A maturação a seco refere-se ao processo de maturação sob refrigeração por longos períodos, de carcaças, ou peças não embaladas. A maturação em húmido refere-se ao processo de maturação em ambiente refrigerado da carne já desmanchada em peças de talho e embalada a vácuo (Laster *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2008).

3.3. Qualidade da carne

Inerente ao ser humano, o conceito de qualidade é de difícil definição e embora seja, hoje em dia, aplicado a todos os setores de atividade, muitos têm sido os que procuram uma definição sobre o que é efetivamente qualidade. Cada vez mais existe a necessidade generalizada de os produtos consumidos serem de “qualidade”, sendo que é muitas vezes o fator diferenciador para levar o consumidor a optar por um produto em detrimento de outro.

Por qualidade da carne, entende-se a qualidade da sua composição, nomeadamente composição sensorial e nutricional. A qualidade é definida pelas características que os consumidores depreendem como desejáveis e que incluem não só as características nutricionais e sensoriais como também atributos de segurança, saúde e mais intangivelmente, características como sistemas produtivos amigos do ambiente e mesmo a adoção de uma posição de bem-estar

animal por parte dos sistemas de produção (Becker, 2000; Font-i-Furnols & Guerrero, 2014). É importante salientar que as características que o consumidor associa à qualidade, dependem também do nível educacional e sócio-económico em que este se encontra inserido.

Os principais parâmetros considerados na avaliação da qualidade pelo consumidor são a aparência, tenrura, suculência e *flavour*.

A carne deve apresentar uma cor desejável (por parte do consumidor), tendo que ser uniforme ao longo de todo o corte. A quantidade de gordura e a cor da gordura são também características de aparência fundamentais de apreciação para alguns consumidores no acto de compra bem como o tipo de embalagem em que a carne é apresentada (Carpenter, Cornforth, & Whittier, 2001). Deve também apresentar um marmoreado porque está relacionado com um aumento da tenrura, *flavour* e suculência da carne (Lawrie & Ledward, 2006).

Outro parâmetro a ter em conta na avaliação da qualidade da carne é a capacidade de retenção de água que esta possui. É definida como a capacidade que a carne tem de reter água durante a aplicação de forças externas, nomeadamente o corte, o aquecimento e a prensagem (Lawrie & Ledward, 2006; Zhang, Farouk, Young, Wieliczko & Podmore, 2005). Se for observado um excesso de água no fundo da embalagem de retalho, pode significar que depois de cozinhada, a carne se pode apresentar seca (Muchenje *et al.*, 2009).

Em cada etapa, do crescimento até ao abate, existem diversos fatores tais como *stress*, idade, pH, raça entre outros que condicionam a qualidade da carne (Muchenje *et al.*, 2009). A preparação de animais para o abate e a sua transformação em carne é um encadeamento de eventos que inclui: manuseamento e carregamento dos animais para dentro dos veículos; transporte de animais para o matadouro; tempo de permanência e condições na abegoaria; o abate; o arrefecimento das carcaças; transporte e manuseamento de carcaças para salas de desmancha e transporte e manuseamento de carne para o mercado. Durante estes procedimentos, más instalações e fracas técnicas de operação podem levar a sofrimento desnecessário dos animais e produção de carne de má qualidade.

3.4. Qualidade sensorial da carne

3.4.1. Parâmetros sensoriais mais apreciados pelos consumidores

As preferências dos consumidores, o seu comportamento e a sua perceção da carne e dos produtos derivados são subjetivos e heterogêneos e dependem não só das características sensoriais da carne mas também de aspetos do foro psicológico e de *marketing* (Font-i-Furnols & Guerrero, 2014).

Os parâmetros sensoriais da carne mais apreciados pelos consumidores são a aparência, a textura e o *flavour* (Liu, Lanari & Schaefer, 1995).

A aparência visual de um produto é um dos parâmetros mais relevantes pela sua forte influência na decisão de compra do consumidor (Banović, Grunert, Barreira & Aguiar Fontes, 2009; Bredahl, Grunert & Fertin, 1998; Verbeke *et al.*, 2005 citados por Font-i-Furnols & Guerrero, 2014). A cor e a sua estabilidade são, no ato de compra, os mais importantes atributos da qualidade da carne (Oddy *et al.*, 2001) e os consumidores depreendem que uma cor vermelho-vivo brilhante é compatível com um tempo de vida longo e uma boa qualidade da carne (Hood & Mead, 1993).

Por textura da carne compreende-se a tenrura e suculência desta, mas é essencialmente utilizada como sinónimo de tenrura, uma vez que a variabilidade da componente tenrura predomina sobre a variabilidade da componente suculência (Dransfield, 1993 citado por Prates, 2000). Segundo Warkup, Marie & Harrington, (1995) existem vários indícios e estudos que suportam a ideia de que a tenrura é uma das características organoléticas mais determinantes para os consumidores em termos de consumo e aceitabilidade da carne. O mesmo autor afirma que o indício mais simples da importância que a tenrura da carne tem, é a disparidade de preços existente entre as várias peças de talho de uma mesma carcaça.

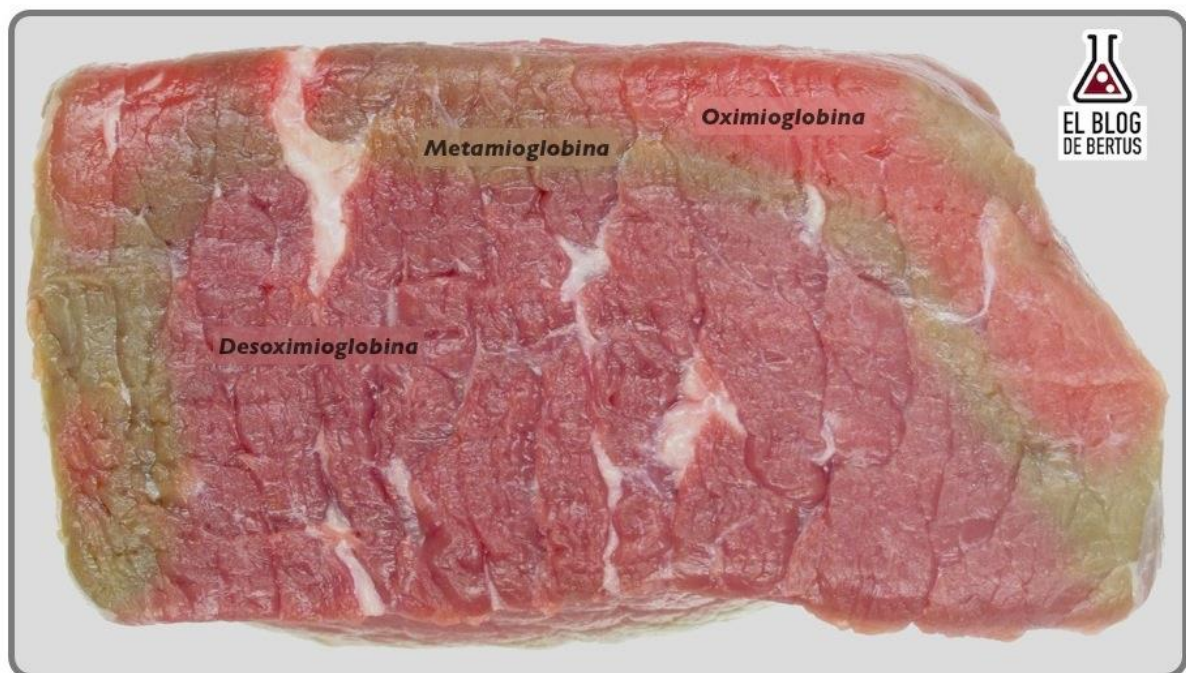
Em termos de importância decrescente para o consumidor, aparece inicialmente como fator determinante em termos de compra, a cor e com o mesmo grau de importância, a tenrura, como fator determinante em termos de consumo, a estes dois fatores seguem-se a suculência e o *flavour* (Warkup *et al.*, 1995).

3.4.2. Cor

A cor da carne está dependente de vários fatores e é influenciada pelo estado químico dos pigmentos musculares (principalmente a mioglobina) e pelas características físicas da carne. A cor característica da carne resulta predominantemente da interação do oxigénio com a mioglobina no músculo. Como afirma Kropf (1980), a cor da carne não é somente um reflexo da quantidade de mioglobina dos diferentes tipos de fibras musculares dentro do músculo, mas também uma função da exposição da mioglobina ao oxigénio e à luz no ponto de venda e de alterações bioquímicas que ocorrem *post-mortem*.

Desoximioglobina (DesoxyMb) é o pigmento púrpura dos músculos profundos e da carne embalada a vácuo que ao ser exposto ao ar, combina com o oxigénio para formar MbO₂, que dá a cor vermelha e o brilho presentes na carne fresca. Com o tempo, o contacto da MbO₂ com o ar leva à sua oxidação e consequente formação de metamioglobina (MetaMb), a qual dá cor castanha e pouco apelativa à carne (Renner, 2000) (Figura 5). Após o abate e durante o armazenamento da carne, a taxa de acumulação de MetaMb na superfície da carne é regulada por vários fatores intrínsecos (raça, dieta, pH e tipo de fibra muscular) e extrínsecos (crescimento bacteriano, temperatura, estabilidade oxidativa e modo de armazenagem) (Renner, Dumont & Gatellier, 1996).

Figura 5 - Fatia correspondente a um corte transversal de uma peça do redondo de bovino, na qual se podem observar os diferentes tipos de mioglobina (adaptado do site www.esbertus.com).



Em relação à mensuração da cor da carne, esta pode ser feita de forma subjetiva ou objetiva. A forma subjetiva é habitualmente efetuada em câmaras frigoríficas por pessoas treinadas. Existem alguns problemas com este tipo de medição, nomeadamente: os métodos utilizados, que podem diferir de país para país; a forte influência que as diferentes luzes nas câmaras frigoríficas podem ter e o facto de uma avaliação subjetiva estar sempre sujeita a contrariedades.

A medição objetiva é geralmente feita usando diferentes dispositivos de mensuração. Cada aparelho disponibiliza uma variedade de opções no que concerne a sistemas de cor (CIE, *Hunter* e *Tristimulus*), tipos de luz (A, C, D65 e Ultralume), ângulo de observação (2° e 10°) e dimensão da abertura do medidor (0,64 - 3,2 cm) (Monteiro, 2012).

Nesta revisão apenas será abordado o sistema de cor CIE (*Commission International De l'Eclairage*), uma vez que é o mais frequentemente utilizado pela comunidade científica para medição da cor e também pelo facto de ter sido o utilizado no presente trabalho experimental. Sucintamente, no sistema CIE - $L^* a^* b^*$, o componente L^* tem a denominação de luminosidade (representado sob a forma de um valor numérico compreendido entre 0 e 100) e representa a diferença entre escuro (0) e claro (100). Os componentes a^* e b^* são apelidados de coordenadas cromáticas sendo que a coordenada a^* mede a proporção entre verde (-60) e vermelho (+60) e a coordenada b^* mede a proporção entre azul (-60) e amarelo (+60) (Muchenje *et al.*, 2009).

As coordenadas cromáticas (Figura 6) também podem ser utilizadas a fim de se calcular o ângulo de tonalidade (h^*) e a intensidade ou saturação da cor (C^*). O h^* corresponde ao que usualmente se chama cor, sendo função do comprimento de onda da luz refletida, enquanto a C^* indica a quão pura a cor é, ou seja, o grau de desvio de cinza (Sahin & Sumnu, 2006). C^* depende essencialmente da estrutura miofibrilar e do pH_u enquanto h^* depende do conteúdo e química dos pigmentos (Renerre, 2000; Touraille, 1991).

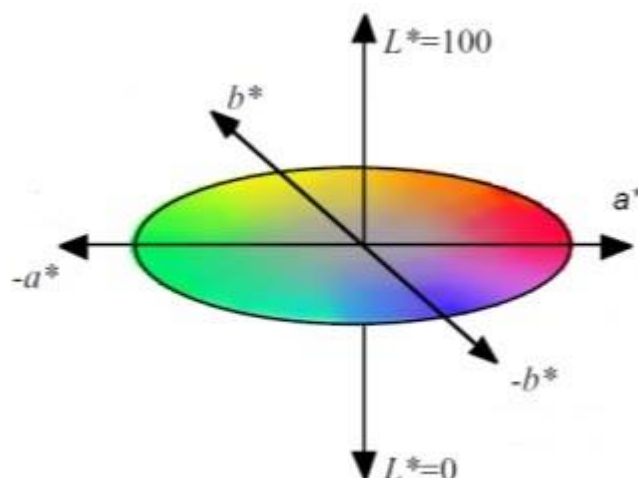
O ângulo de tonalidade pode ser determinado através da seguinte equação:

- $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$

A intensidade ou saturação da cor pode ser determinada através da seguinte equação:

- $C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$

Figura 6 - Representação tridimensional do sistema CIE (adaptado do site www.fhwa.dot.go).



3.4.2.1. A importância da cor para o consumidor

A cor, como já foi anteriormente descrito, é um fator primordial empregado pelos consumidores para avaliação da qualidade da carne, sobretudo a frescura, no ato de compra (Liu *et al.*, 1995). A carne é considerada fresca pelos consumidores quando se apresenta brilhante e de coloração vermelho vivo (Oddy *et al.*, 2001). Esta apreciação é vinculada pelo facto das peças de carne vermelha cuja superfície se apresenta descolorada (característica inevitável) serem interpretadas como insalubres (Faustman & Cassens, 1990). Os consumidores reprovam as peças de carne que não possuem uma aparência fresca (Becker, 2000; Font-i-Furnols & Guerrero, 2014; Glitsch, 2000), as quais, por se apresentarem descoradas, acabam por ser picadas e comercializadas por valor reduzido.

3.4.2.2. Fatores que influenciam a cor da carne

A cor da carne pode ser influenciada por vários fatores, sejam eles intrínsecos ao animal (sexo, raça, nível de antioxidantes endógenos, idade, metabolismo, tipo de músculo e pH_u) ou extrínsecos ao animal (temperatura, disponibilidade de oxigénio, tipo de luz a que a carne é exposta, tipo de embalagem e variedade e crescimento de microrganismos na superfície da carne) (Bekhit & Faustman, 2005). Se o glicogénio muscular for utilizado muito rapidamente

durante o transporte e o período pré-abate, origina que no período *post-mortem* seja produzido pouco ácido láctico o que resulta em carnes DFD (Muchenje *et al.*, 2009). Animais alimentados no pasto possuem uma cor de gordura mais amarela devido aos elevados níveis de β -caroteno contidos na erva. Os consumidores, por norma, vêm esta cor mais amarela da gordura como sinal de que a carne possa pertencer a animais velhos ou doentes (Baublits *et al.*, 2004).

Foi descrito (Muchenje *et al.*, 2009) que existem relações significativas entre os níveis de catecolaminas e o brilho na carne de bovinos da raça Nguni. O mesmo não foi possível relacionar em bovinos de raça Angus, pelo que a relação “nível de catecolaminas/brilho da carne” pode ser raça-dependente e complexo de interpretar.

A oxidação lipídica é, a par do desenvolvimento microbiano, a maior causa de deterioração da qualidade da carne e pode afetar diretamente certas características como a cor, tenrura, suculência, valor nutritivo e até mesmo a segurança dos alimentos (Buckley, Morrissey & Gray, 1995). A oxidação lipídica é um processo degenerativo do qual resulta a deterioração da cor da carne fresca e cozinhada. Está relacionada com a oxidação dos pigmentos embora essa relação não seja totalmente compreendida. Do ponto de vista da cor da carne, pensa-se que os radicais livres resultantes da oxidação lipídica atuem diretamente para promover a oxidação dos pigmentos ou indiretamente ao danificar os sistemas de redução do pigmento (Greene 1969; Hutchins *et al.*, 1967; Faustman *et al.*, 1989b)

3.4.3. Tenrura

Por tenrura da carne (inverso da sua dureza) entende-se a sensação, percebida pelo consumidor, da resistência mecânica da carne à mastigação (Culioli, 1995; de Huidobro, Miguel, Blázquez & Onega, 2005; Destefanis, Brugiapaglia, Barge & Dal Molin, 2008) e à sua suavidade na língua (Muir, Wallace, Dobbie & Bown, 2000). Esta propriedade sensorial da carne depende diretamente das suas características mecânicas, sendo avaliada subjetivamente por consumidores e objetivamente por painéis de provadores treinados e/ou por métodos instrumentais. Quanto mais dura for a carne, maior será a força necessária para cortá-la, força essa que é medida pelo teste Warner Bratzler shear force (WBSF).

A tenrura é um dos parâmetros mais determinantes para os consumidores aquando da avaliação da qualidade da carne e quando se apresenta baixa é uma causa comum para a inaceitabilidade

da carne. É determinada pela quantidade e solubilidade do tecido conjuntivo presente na carne, pelo encurtamento dos sarcômeros durante o desenvolvimento do período de *rigor mortis* e pela proteólise de proteínas miofibrilares e proteínas associadas (Koohmaraie & Geesink, 2006; Mohammad Koohmaraie, Kent, Shackelford, Veiseth & Wheeler, 2002).

A tenrura da carne pode variar consoante algumas características intrínsecas do animal como a idade, o sexo ou a raça (apesar de ter sido descrito por Sañudo *et al.* (2004) que o fator raça nem sempre é refletido em diferenças nos valores do teste WBSF ou por painéis sensoriais) ou devido ao *stress ante mortem* dos animais dos quais provém a carne. No entanto, as principais fontes de variação da tenrura são as alterações estruturais das proteínas miofibrilares do tecido muscular esquelético no período compreendido entre o abate dos animais e o consumo da carne (Kemp, Sensky, Bardsley, Buttery & Parr, 2010; M. Koohmaraie & Geesink, 2006; Muir *et al.*, 2000).

A carne pode tornar-se mais tenra através da maturação da carne. Ao ser maturada, a carne pode apresentar os valores da força de corte (WBSF) diminuídos como resultado da degradação enzimática do tecido muscular *post-mortem*. Esta degradação pode ser influenciada por factores externos, nomeadamente pela temperatura de armazenamento da carne ou por factores intrínsecos como o pH muscular, tipo de fibra muscular ou quantidade de tecido conjuntivo (María, Villarroel, Sañudo, Olleta & Gebresenbet, 2003; Muchenje *et al.*, 2009; Sañudo *et al.*, 2004; Smulders, Marsh, Swartz, Russell & Hoenecke, 1990).

3.4.4. Suculência da carne

A suculência representa o carácter mais ou menos seco da carne durante o processo de mastigação. Pode ser dividido em dois componentes, nomeadamente o suco que é libertado durante a primeira mastigação como resultado da degradação da estrutura da carne e o aumento da produção de saliva como resultado da estimulação da gordura intramuscular sobre as glândulas salivares. A suculência depende, não apenas de cada componente da composição da carne mas também da relação entre componentes durante o processo de mastigação. As principais características da qual a suculência está dependente são a quantidade de gordura presente na carne e a sua capacidade de retenção de água (Ouali, 1991).

3.4.5. *Flavour* da carne

Por *flavour* da carne, entende-se o sabor e o odor da carne. São atributos sensoriais muito subjetivos que apresentam uma influência significativa na aceitabilidade da carne pelo consumidor (Shahidi, 1998).

Apesar da carne crua não possuir um aroma agradável e ter apenas um sabor típico a sangue para a maioria dos consumidores (à exceção dos consumidores de bife tártaro), contém todos os componentes que posteriormente se irão transformar num aroma agradável e em realçadores de sabor durante o processo de confeção (Mottram, 1998).

Os principais precursores do sabor da carne podem ser divididos em dois grupos principais: componentes solúveis em água (aminoácidos, péptidos, açúcares redutores, nucleótidos e vitaminas) e lípidos. Durante a confeção da carne, as interações entre estas moléculas e/ou os seus produtos de degradação através de reações químicas complexas, tais como a reação de degradação de Strecker ou a reação de Maillard, levam à produção de um grande número de produtos intermédios e/ ou voláteis que produzem o *flavour* da carne (Melton, 1982; Mottram, 1998).

Em relação à componente lipídica da carne, existe alguma controvérsia em relação à contribuição que esta tem na atribuição do *flavour* à carne. Por um lado, Mottram (1998), descreve que a fração lipídica é a fonte do sabor característico da carne que os consumidores apreciam, no entanto, segundo Skibsted, Mikkelsen & Bertelsen (1998), os lípidos são os principais precursores de sabores e odores desagradáveis presentes na carne durante o armazenamento, devido à hidrólise de fosfolípidos e triacilgliceróis e da oxidação de ácidos gordos.

A decomposição oxidativa das gorduras insaturadas é um dos principais fatores para a génese de cheiros desagradáveis, maus sabores e decomposição da carne (Skibsted *et al.* 1998).

A oxidação de ácidos gordos pelo calor conduz à produção de aldeídos alifáticos, cetonas e álcoois, os quais têm sabores muito distintos (Elmore, Mottram, Enser & Wood, 1999) e podem interferir com o sabor da carne.

3.5. Qualidade nutricional da carne

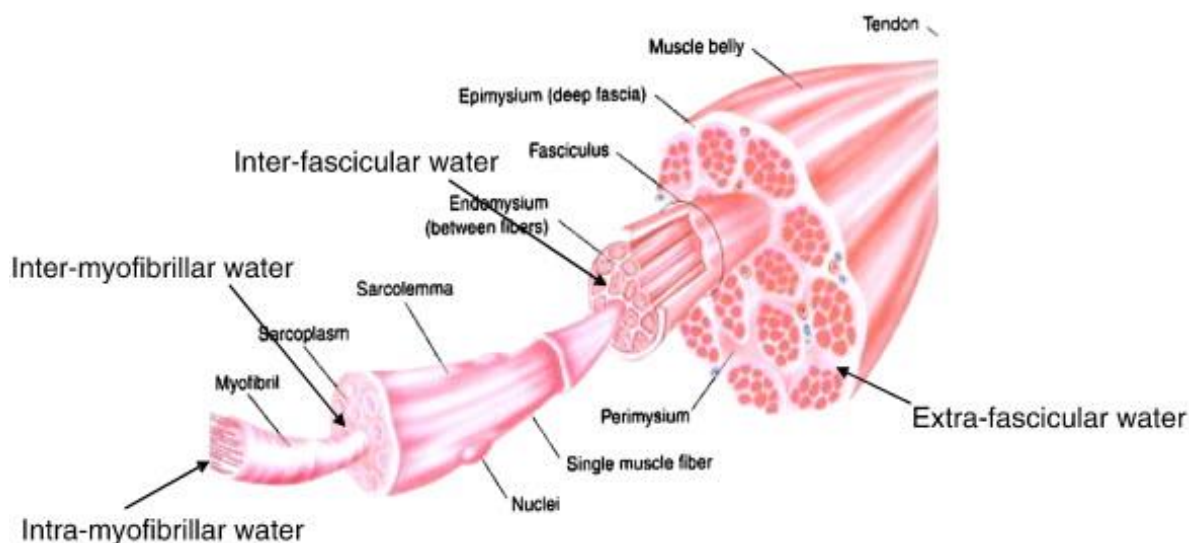
3.5.1. Teor em água e sua capacidade de retenção

A distribuição e a mobilidade da água no tecido muscular e na carne têm uma profunda influência sobre alguns atributos da sua qualidade, designadamente na aparência, na tenrura e na suculência (Trout, 1988 citado por Pearce, Rosenvold, Andersen & Hopkins, 2011). O teor de água presente no tecido muscular é de cerca de 75% (Cheng & Sun, 2008). A molécula de água interage com os átomos de oxigénio e hidrogénio, o que leva a alterações das suas cargas, formas e tamanhos. Estas interações, juntamente com fatores *ante-mortem* (raça, músculo, nível de *stress* do animal, etc.) e *post-mortem* (procedimento de abate, taxa de arrefecimento da carcaça e tempo e temperatura de maturação) influenciam o comportamento da água nas fibras musculares (Pearce *et al.*, 2011; Puolanne & Halonen, 2010). A água presente na fibra muscular (Figura 7), está confinada essencialmente nos espaços entre os filamentos grossos e finos das miofibrilas, entre feixes de fibras ou entre as fibras (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005) e confere ao tecido muscular lubrificação e um meio de transporte para alguns metabolitos (Cheng & Sun, 2008).

Durante o processamento da carne um problema considerável a ter em conta são as perdas de água, que podem ser expressas por gotejamento, perdas por confeção, água presente no fundo da embalagem ou recipiente de retalho e perdas por arrefecimento. A perda de água da carne crua pode ser obtida por evaporação da superfície e/ou como exudados quando um músculo é cortado. A habilidade da carne para reter a água é definida como a capacidade de retenção de água (Grau & Hamm, 1956, citado por Cheng & Sun, 2008).

As perdas de água têm implicações a nível económico na medida em que reduzem o peso do produto e também têm uma influência substancial na qualidade da carne, uma vez que, uma carne que perde água se torna menos apelativa ao consumidor por apresentar um aspeto mais contraído e enrugado. Além disso, maiores perdas de água resultam em carne mais seca e consequentemente menos suculenta. A perda de água tem também um impacto negativo ao nível da tenrura da carne (Cheng & Sun, 2008; Oddy *et al.*, 2001).

Figura 7 - Esquema da divisão muscular e os diferentes locais de armazenamento da água na fibra muscular (Pearce *et al.*, 2011).



A conversão do músculo em carne afeta a capacidade de retenção de água e consequentemente a perda de água. A primeira fase manifesta-se como uma expansão celular pelo aumento da osmolaridade intracelular *post-mortem*. Durante a fase de *rigor mortis* ocorre contração muscular longitudinal e lateral, levando à ocorrência da segunda fase de redistribuição da água. À medida que o espaçamento lateral dos filamentos miofibrilares diminui, o fluido sarcoplasmático é repellido da estrutura miofibrilar para o espaço extracelular, dando origem a divisões de água em torno das fibras e dos feixes de fibras (Oddy *et al.*, 2001; Tornberg, 2005). Estas divisões levam a que a carne crua se apresente mais viscosa comparativamente à carne cozinhada. Outro fator com influência nas perdas de água por gotejamento é a taxa de declínio do pH (Muchenje *et al.*, 2009). Se os valores de pH se apresentarem baixos enquanto a temperatura se mantém elevada, leva a que haja uma maior desnaturação das proteínas, a carne apresente uma cor pálida e haja uma quebra na capacidade de retenção de água. Assim estamos perante uma carne pálida, mole e exudativa (PSE) (Monteiro, 2012). As carnes PSE aparecem mais comumente em carnes de suíno e são as que apresentam maiores taxas de corrimento e perdas de água por gotejamento (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005).

3.5.2. Teor de proteína e qualidade da proteína da carne de bovino

A nível nutricional, a carne representa a principal fonte de proteína da dieta humana. Esta proteína é de elevada digestibilidade (próximo dos 94%) e possui um alto valor biológico, uma vez que apresenta um perfil de aminoácidos equilibrado, contendo todos os aminoácidos essenciais à dieta humana (Aristoy & Toldrá, 2009). A carne fresca é constituída por 20 a 25% de proteína (Higgs, 2000).

Ao serem comparadas as fontes de proteína de origem vegetal com as de origem animal podem ser revelados dois aspetos muito significantes. O primeiro foca o fato da digestibilidade da proteína proveniente da carne (aproximadamente 94%) ser superior à digestibilidade da proteína vegetal (78 - 86% dependendo da fonte vegetal). O segundo indica que a carne é a única fonte de proteínas que ostenta um perfil de aminoácidos completo e proporcionalmente equilibrado, o que não se verifica em proteína de origem vegetal, onde alguns dos aminoácidos essenciais à dieta humana tais como a lisina, a metionina e o triptofano se apresentam em percentagens bastante reduzidas (de Man, 1999).

3.5.3. Teor de colesterol

O colesterol é um esteroide e um precursor de vários compostos biológicos designadamente ácidos biliares, vitamina D e hormonas sexuais (Silvestre & Lidon, 2009). Exerce um papel estrutural nas membranas das células animais, cuja presença garante a fluidez e permeabilidade das membranas (Alasnier, Rémignon & Gandemer, 1996). É sintetizado principalmente no fígado e noutros tecidos mas também pode ser absorvido a partir de fontes dietéticas. O colesterol pode ser oxidado e os produtos resultantes dessa oxidação são também esteróis com estrutura similar ao colesterol e com propriedades tóxicas/mutagénicas. Por não ser um nutriente essencial ao organismo, por ser veiculado predominantemente por produtos de origem animal (Dinh *et al.*, 2011) e por terem sido implicados na iniciação e progressão de aterosclerose, o colesterol representa uma preocupação para os consumidores (Kumar & Singhal, 1991).

Apesar da produção endógena de colesterol ao nível hepático ser responsável por pelo menos 50% da concentração plasmática, algumas recomendações nutricionais aconselham que a ingestão diária não ultrapasse as 300 mg/dia (Krauss *et al.*, 1996, 2000). Também as

organizações internacionais WHO/FAO têm alertado para os efeitos nefastos do colesterol e apelam à necessidade a uma alimentação equilibrada.

O sarcolema é predominantemente composto por fosfolípidos e colesterol, predominando um maior rácio fosfolípidos/colesterol nos músculos oxidativos comparativamente com os músculos glicolíticos (Alasnier *et al.*, 1996; Smith, Fletcher, Buhr & Beyer, 1993). Devido ao fato de existir uma representação significativa de colesterol ao nível das membranas celulares, a desigualdade de diâmetros das diferentes fibras musculares e a variação na proporção de fibras musculares entre diferentes músculos, pode conduzir a discrepâncias no teor de fosfolípidos e colesterol entre músculos (Dinh *et al.*, 2011). Chizzolini *et al* (1999) demonstraram valores médios de colesterol para a carne de bovino na ordem dos 60mg/100g de músculo. Contudo, os mesmos autores apresentaram valores de colesterol para o músculo *longissimus dorsi* um pouco abaixo dos valores médios (47 mg/100g de músculo), o que suporta a ideia de que diferentes músculos do mesmo animal podem apresentar diferentes teores de colesterol.

3.5.4. β -caroteno

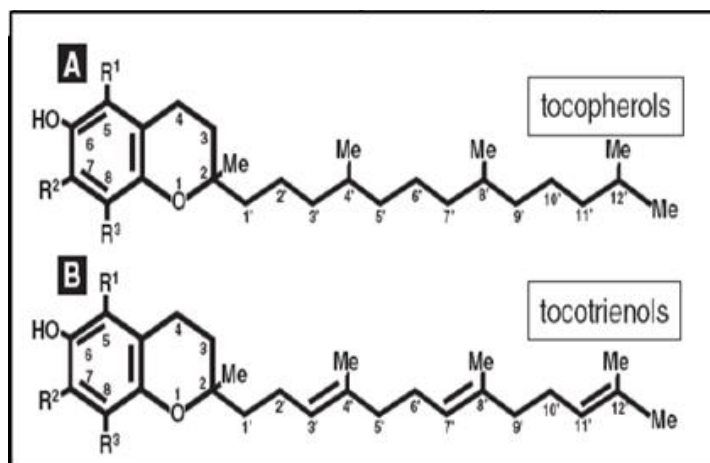
O β -caroteno pertence ao grupo dos carotenóides com atividade pró-vitamina A. Para além dessa notória função, tem um efeito positivo sobre a reprodução em animais de produção. No metabolismo intermediário, pode também atuar como um “sequestrador” de radicais livres. Portanto, ao aumentar o teor de β -caroteno no tecido muscular por modificação da dieta possibilita-se uma melhoria no estado antioxidante. Esta possibilidade foi comprovada por Palozza & Krinsky (1992), que demonstraram um sinergismo antioxidante entre o β -caroteno e o α -tocoferol em membranas *in vitro*.

Até à data, estão disponíveis poucas informações a respeito do efeito do β -caroteno e outros carotenóides em processos oxidativos em animais vivos e produtos alimentares de origem animal (Decker, Faustman & Lopez-Bote, 2000).

3.5.5. Vitamina E

As vitaminas podem ser hidrossolúveis ou lipossolúveis, sendo os lípidos os veículos das vitaminas lipossolúveis das quais faz parte a vitamina E que representa, ao contrário de outras vitaminas com uma estrutura química única e bem definida, um termo genérico para um conjunto de 8 moléculas, divididas em 2 famílias (tocoferóis e tocotrienóis). Os tocoferóis e os tocotrienóis são estruturalmente semelhantes, sendo ambos constituídos por um anel 6-cromanol comum e uma cadeia lateral com dezasseis carbonos na posição C2 (Brigelius-Flohé *et al.*, 2002; Schneider, 2005). A diferença entre ambos está nas suas cadeias laterais, sendo que os tocoferóis detêm uma cauda fitil saturada com três centros quirais, enquanto os tocotrienóis possuem uma cadeia lateral isoprenóide insaturada, com três ligações duplas nas posições 3', 7' e 11' (Brigelius-Flohé *et al.*, 2002). Os tocoferóis e os tocotrienóis apresentam 4 moléculas homólogas (α -, β -, γ - e δ -), cuja diferença entre elas reside na posição e no número de grupos metilo ligados ao anel cromanol (Figura 8).

Figura 8 - Estrutura química da vitamina E (adaptado de Quaresma *et al.*, 2008).



Embora o principal homólogo da vitamina E presente na carne seja o α -tocoferol, também podem ser identificadas pequenas quantidades de outros homólogos de vitamina E. O tocoferol é uma vitamina lipossolúvel que detém uma função antioxidante sobre os tecidos biológicos (Daley, Abbott, Doyle, Nader & Larson, 2010; Morrissey, Buckley, Sheehy & Monahan, 1994; Schneider, 2005). A sua acção antioxidante e o seu posicionamento nas membranas celulares e sub-celulares permite que a vitamina E detenha a habilidade de eliminar os radicais livres e

assim, proteger os fosfolípidos membranares da ação oxidante das espécies reativas do oxigénio (Brigelius-Flohé *et al.*, 2002; Brigelius-Flohé & Traber, 1999), impedindo a deterioração da cor, do sabor e das características nutricionais da carne durante o armazenamento, preservando assim a sua qualidade (Gray, Gomaa & Buckley, 1996). Segundo Burton, Joyce & Ingold (1983), uma molécula de α -tocoferol é suficiente para proteger cerca de 1000 moléculas de fosfolípidos.

No que respeita ao teor de vitamina E presente nos tecidos animais, este está principalmente dependente da concentração plasmática de vitamina E dos tecidos e órgãos. Em geral, o fígado e as glândulas adrenais contêm as maiores concentrações de α -tocoferol e os músculos e o tecido adiposo contêm as menores concentrações (Arnold *et al.*, 1992). Uma vez que os animais são incapazes de sintetizar vitamina E, o seu teor nos tecidos encontra-se totalmente dependente da dieta (Faustman *et al.*, 1989b).

O α -tocoferol, após ser ingerido, está dependente da formação de micelas para que seja transportado através da serosa intestinal (Drevon, 1991; Hollander, 1981) onde será incorporado em lipoproteínas e excretado na linfa intestinal (Bjørneboe, Bjørneboe & Drevon, 1990) para ser distribuído pelos tecidos. É de salientar que existem evidências de que o α -tocoferol não é absorvido nem degradado no rúmen (Leedle, Leedle & Butine, 1993). Outro fator que condiciona a concentração de α -tocoferol nos tecidos é o tipo de fibra muscular (Arnold, Arp, Scheller, Williams & Schaefer, 1993a; Jensen *et al.*, 1997), sendo as fibras musculares oxidativas as que apresentam maior capacidade de armazenamento e consequentemente maiores teores de α -tocoferol (Jensen, Lauridsen & Bertelsen, 1998). As fibras musculares oxidativas possuem maior apetência para armazenar α -tocoferol devido às seguintes características: um maior aporte sanguíneo, viabilizando mais vitamina E às suas fibras; um maior número de organitos subcelulares e consequentemente mais vitamina E membranar e maior conteúdo lipídico, aumentando profundamente a capacidade de armazenagem desta vitamina lipossolúvel (Ashmore *et al.*, 1972).

O papel antioxidante da vitamina E na preservação da carne é de extrema importância, uma vez que a deterioração da qualidade da carne é, em grande parte, responsabilidade da oxidação lipídica e da oxidação da mioglobina (Buckley *et al.*, 1995; Jensen *et al.*, 1998; Monahan, 2000; Morrissey *et al.*, 1994). A oxidação lipídica afeta essencialmente os ácidos gordos polinsaturados dos fosfolípidos membranares e o colesterol, cuja oxidação reduz o valor nutricional e nutracêutico da carne (Decker *et al.*, 2000; Faustman *et al.*, 1989b; Renner *et al.*, 1996) e conduz à produção de compostos potencialmente tóxicos com efeitos adversos para a

saúde (Higley, Taylor, Herian & Lee, 1986; Souza & Silva, 2006). A oxidação da mioglobina, como já foi referido anteriormente, contribui para uma deterioração significativa da cor da carne, prejudicando a percepção do consumidor e dissuadindo-o a comprar essa carne. A oxidação lipídica assim como a da mioglobina ocorrem de forma integrada, pelo que a ação da vitamina E contribui de forma positiva para a diminuição da oxidação da mioglobina (Faustman *et al.*, 1989b; O'Grady, Monahan, Fallon & Allen, 2001).

Sendo a dieta a fonte exclusiva do α -tocoferol presente nos tecidos animais, a suplementação da dieta com vitamina E conduz a níveis musculares deste composto mais elevados, traduzindo-se em menor oxidação lipídica da carne (Cannon *et al.*, 1996; Chan *et al.*, 1996; Jensen *et al.*, 1998; Lahucky *et al.*, 2002; Schwarz, Augustini, Timm, Kirchgeßner & Steinhart, 1998; Zerby, Belk, Sofos, McDowell & Smith, 1999), menor formação de metamioglobina (Chan *et al.*, 1996; Eikelenboom, Hoving-Bolink, Kluitman, Houben & Klont, 2000; Faustman, Chan, Schaefer & Havens, 1998; Liu *et al.*, 1995; Mitsumoto, Cassens, Schaefer, Arnold & Scheller, 1991) e menor exsudação (Buckley *et al.*, 1995; Cannon *et al.*, 1996; Eikelenboom *et al.*, 2000; Schwarz *et al.*, 1998), conferindo assim à carne uma maior estabilidade oxidativa, preservando as suas características, o seu valor nutricional e o seu tempo de prateleira (Dirinck, De Winne, Casteels & Frigg, 1996; Salvatori *et al.*, 2004).

A adição de α -tocoferol à carne não mostra evidências de ser tão eficiente, nem é tão vantajoso quanto a sua ingestão *in vivo*, uma vez que o tocoferol não é diretamente incorporado na membrana onde ocorre a oxidação lipídica (Faustman *et al.*, 1989b; Mitsumoto, Arnold, Schaefer & Cassens, 1993).

4. Material e Métodos

4.1. Material biológico

4.1.1. Animais

Para a elaboração do presente estudo foram selecionados aleatoriamente 40 animais de uma exploração sediada em Estremoz, a Herdade da Defesa. Os 40 animais selecionados eram todos novilhos do sexo masculino, cruzados de raça Aberdeen Angus, com idades compreendidas entre os 10 e os 16 meses. No início do estudo, os 40 animais tinham uma idade média de $13,5 \pm 2,1$ meses e apresentavam um peso-vivo médio de 420 ± 13 kg (Figura 9).

Os 40 animais foram divididos em dois grupos experimentais de 20 animais cada que receberam a designação de grupo “S” e “C” de acordo com a dieta que receberam. O grupo “S” representava o lote dos animais cuja dieta foi alvo de reforço com vitamina E (grupo suplementado) e o lote “C” o grupo dos animais que receberam a dieta padrão sem reforço (grupo controlo). A divisão dos animais pelos grupos foi realizada de forma aleatória, tendo apenas em consideração a idade dos animais, cujo objetivo foi a obtenção de dois grupos o mais homogêneos possível, tendo ficado o grupo “S” com uma média de idades de $13,8 \pm 1,8$ meses e de peso-vivo médio de 420 ± 39 kg e o grupo “C” com uma média de idade de $13,3 \pm 2,3$ meses e de peso-vivo médio de 419 ± 40 kg.

Todos os animais foram criados em condições extensivas até ao início do trabalho experimental, que se iniciou a 15 de Abril de 2014 aquando do acabamento dos mesmos, onde os grupos foram confinados em dois parques a céu aberto com palha, água e alimento concentrado *ad libitum*.

Figura 9 - Alguns exemplos dos animais constituintes dos dois grupos experimentais no dia em que se iniciou o trabalho experimental (fotografias originais).



4.1.2. Alimento concentrado

O alimento concentrado utilizado no estudo proveio da empresa de rações Provimi[®], marca com a qual foi feita uma parceria para a realização do presente trabalho experimental.

Os regimes alimentares foram similares em ambos os grupos, sendo a suplementação de vitamina E à ração do grupo “S” a única diferenciação entre eles. A ração fornecida aos animais foi um concentrado comercial para bovinos de engorda cuja composição se apresenta na Figura 10. A suplementação de que a ração do grupo “S” foi alvo foi de 2 g de Vitamina E (α -tocoferol) por cada kg de concentrado.

Figura 10 - Constituição da ração fornecida aos animais (fonte: Provimi[®]).

PROVI SUPER CARNE

2

Alimento Complementar para Animais - Bovinos de Engorda

CONSTITUINTES ANALÍTICOS: Proteína bruta*14%, Fibra bruta 7.3%, Matéria gorda bruta 5.5%, Cinza bruta 5.7%, Sódio 0.50%.

* Contributo em Azoto não Proteico, expresso em Proteína Bruta, como percentagem de Proteína Bruta Total: 10.31 %

ADITIVOS (por kg):

VITAMINAS, PRO-VITAMINAS E SUBSTÂNCIAS QUÍMIC. BEM DEFINIDAS DE EFEITO SEMELHANTE: E 672 Vitamina A 4,800UI, E 671 Vitamina D3 1,600UI, E 307 Vitamina E (alfa-tocoferol) 24mg, UREIA E SEUS DERIVADOS: 2.1.1 Ureia, tecnicamente pura 5.00g, COMPOSTOS DE OLIGOELEMENTOS: E 5 Manganês - Óxido manganoso 44mg, E 2 Iodo - Iodeto de potássio 0.3mg, E 3 Cobalto - Sulfato de cobalto mono-hidratado 0.2mg, E 4 Cobre - Sulfato cúprico penta-hidratado (a) 8mg, E 1 Ferro - Sulfato ferroso hepta-hidratado 8.0mg, E 8 Selênio - Selenito de sódio 0.3mg, E 6 Zinco - Óxido de zinco 48mg.

COMPOSIÇÃO:

Milho, F.F. de Milho Rico em Amido, Dreches Escuros da Indústria da Destilação do Milho, Sêmea de Trigo, Cascas de soja, Cevada, Bagaço de Soja Descascada e Torrada Obtida por Extração, Melaço de Cana de Açúcar, Gordura Animal Suína, Glicerina bruta, Carbonato de Cálcio, Bagaço de Girassol Obtido por Extração, Bicarbonato de Sódio, Cloreto de Sódio.

DDG - "Dreches" escuros da indústria de destilação de milho (produzido a partir de milho geneticamente modificado). Cascas de Soja (produzido a partir de soja geneticamente modificada). Bagaço de Soja (produzido a partir de soja geneticamente modificada). A quantidade máxima aconselhada por 100kg/P.V. dia é de 2,5kg. Dar água fresca à descrição. Armazenar em local fresco e seco.

7461 51 42065 – VALID/ATE

4.1.3. Abate dos animais

A fase de acabamento terminou aquando do abate dos animais, que se realizou a 8 de Julho de 2014 no matadouro Santacarnes, localizado em Santarém. Foi aplicada estimulação elétrica às carcaças, após a sangria, durante 15 segundos. As carcaças foram seccionadas e divididas em meias carcaças. As meias-carcaças, no final da cadeia de abate (Figura 11) foram encaminhadas para uma câmara frigorífica e armazenadas a 4 °C.

Figura 11 - Meias carcaças após o seccionamento (à esquerda) e encaminhamento para a câmara frigorífica (fotografias originais).



4.1.4. Recolha das amostras

A recolha das amostras procedeu-se de acordo com alguns prazos e critérios estabelecidos.

O primeiro prazo instituído foi relativo ao tempo de maturação da carne, em que se realizaram duas recolhas: uma no dia após o abate (carne não maturada) e uma sete dias após o abate (carne com sete dias de maturação).

O segundo prazo estabelecido diz respeito ao tempo de armazenagem das amostras em prateleira sob condições de atmosfera modificada (80% de O₂ e 20% de CO₂). Este prazo foi aplicado posteriormente ao tempo de maturação das amostras, ou seja, após o respetivo tempo de maturação (carne não maturada e carne com 7 dias de maturação), as amostras foram armazenadas em prateleira, numa câmara frigorífica a 4 °C, durante 0 dias, 6 dias e 12 dias.

As amostras não maturadas foram retiradas das meias-carcaças esquerdas e as amostras com 7 dias de maturação das meias-carcaças direitas. Foram recolhidos de cada meia-carcaça quatro bifos (três finos com 1 cm de espessura e um grosso com 3 cm de espessura) da peça da vazia, pertencentes ao músculo *Longissimus Lumborum*. Os 3 bifos finos foram colocados em *cuvette*, embalados com atmosfera modificada (80% de O₂ e 20% de CO₂) e armazenados em prateleira durante 3 períodos distintos (0 dias, 6 dias e 12 dias), tendo sido, após os respetivos tempos de prateleira embalados a vácuo e congelados a -20 °C para análises posteriores. O bife grosso foi diretamente colocado numa embalagem selada a vácuo e congelado igualmente a -20 °C para análise da força de corte.

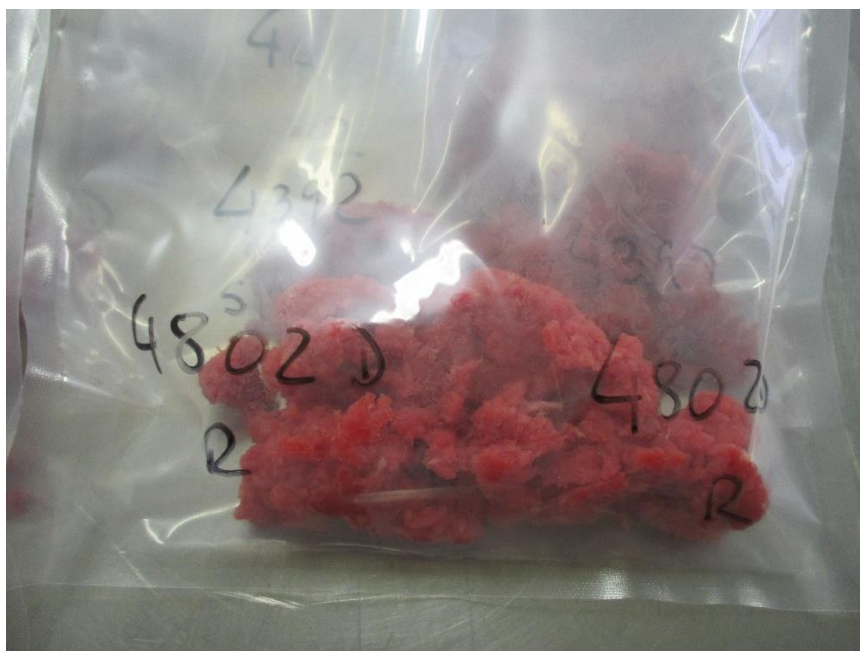
Cada amostra foi identificada com o número do brinco do animal correspondente, com a letra referente à meia-carcaça (D – direita e E – esquerda) e com a sigla do lote a que o animal pertencia. Por exemplo, uma amostra referente ao animal pertencente ao lote S, com o brinco número 9898 e retirada da meia-carcaça esquerda, foi identificada da seguinte forma: S 9898 E. Além desta identificação, aos bifos finos foi acrescentado o número correspondente aos dias em que estiveram em prateleira. Por exemplo, uma amostra pertencente a um animal do lote C, com o brinco número 4414, retirada da meia-carcaça direita, com 6 dias de tempo de prateleira, foi identificada da seguinte forma: C 4414 D 6.

4.1.5. Preparação das amostras

A medição do pH e dos parâmetros de colorimetria foram as primeiras determinações a realizar. Para tal foram descongelados os bifes finos e a estes foi-lhes retirada a gordura periférica e o tecido conjuntivo macroscopicamente visível.

Após a determinação dos valores de cor e do pH da carne, as amostras foram homogeneizadas numa picadora Moulinex® (Figura 12), embaladas a vácuo e congeladas a -20° C para posteriormente se determinarem os teores de vitamina E.

Figura 12 - Amostras após homogeneização (fotografia original).



4.2. Determinação de parâmetros físico-químicos da carne

4.2.1. Determinação do pH

A determinação do pH foi feita de acordo com a Norma Portuguesa - 3441 (2008), recorrendo a um potenciômetro portátil HI9023 (HANNA Instruments, Itália) munido de um eléctrodo de perfuração FC230B do mesmo fabricante (Figura 13). O valor do pH obteve-se da média aritmética de duas determinações consecutivas, cumprindo os requisitos de repetibilidade.

Figura 13 - Determinação do pH através de um potenciômetro (fotografia original).



4.2.2. Determinação da cor

Após a determinação do pH da carne, foi realizada a medição da cor. Para a determinação da cor das amostras, efectuou-se uma medição objetiva da cor do músculo LL. Para tal, foi utilizado um colorímetro Minolta CR 300 colorimeter (Konica Minolta Holdings Inc., Tokyo, Japan) (Figura 14). As amostras ficaram uma hora expostas ao ar para permitir oxigenação e de seguida, efetuaram-se duas medições consecutivas e o valor foi obtido através da média aritmética das coordenadas de descrição da cor CIE L^* , a^* , b^* .

Figura 14 - Meduração objetiva da cor com a utilização de um colorimetro (fotografia original).



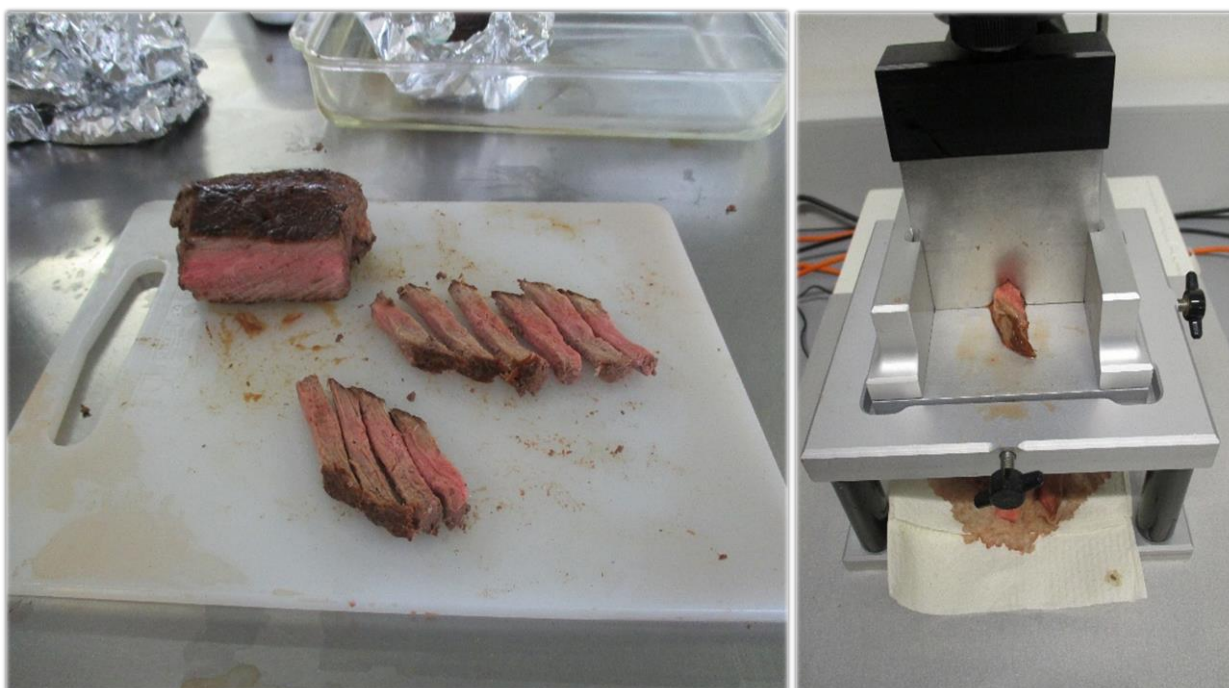
4.2.3. Determinação da força de corte (WBSF test)

Para a determinação da força de corte foram utilizados os bifes grossos (3 cm de espessura). Os bifes foram descongelados e grelhados até atingirem os 70 °C de temperatura interna. Para o efeito utilizou-se um grelhador Modular 65/70 FTES de chapa elétrica (Modular System Ltd., Itália) pré-aquecido a uma temperatura de 250°C. A temperatura foi controlada com o auxílio de um termómetro agulha, o qual foi inserido na horizontal no ponto médio da espessura do bife (Figura 15). Após atingirem os 70 °C de temperatura interna, foram retirados do grelhador e deixados a repousar até atingirem a temperatura ambiente. De cada bife seccionaram-se transversalmente 10 tiras de 1 cm² (cortadas paralelamente à orientação das fibras musculares) e essas tiras foram cortadas perpendicularmente ao sentido longitudinal das fibras musculares, utilizando um analizador de texturas TA-TX Plus (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) equipado com uma lâmina de corte Warner-Bratzler (Figura 16). A resistência das amostras à força de corte foi registada num diagrama força-deformação. A força de corte máxima em quilogramas corresponde ao pico máximo da curva.

Figura 15 - Bifes a cozinhar na grelha (esquerda) e verificação da temperatura interna (direita) (fotografias originais).



Figura 16 - Secção de um bife em 10 tiras de 1 cm² (esquerda) e utilização do analisador de texturas (direita) (fotografias originais).



4.2.4. Determinação dos teores de vitamina E

A determinação da vitamina E foi realizada em duplicado, recorrendo à saponificação e extração a partir de amostras dos bifes finos de dia 0; dia 6 e de dia 12, de acordo com a técnica desenvolvida por Prates, Quaresma, Bessa, Fontes & Alfaia, (2006).

O equipamento utilizado foi o seguinte:

- Balança (Gilbertini, E42);
- Vórtex (Heidolph, Multi reax);
- Banho-maria com agitação (GFL, 1083);
- Centrífuga (Sigma, modelo 6K10);
- Filtros de seringa hidrofóbicos 0,45 µm (GHP Acrodisc, Life Sciences);
- Seringa de vidro (Originali Leber, Itália);
- Viais de cromatografia de cor âmbar (VWR com 1,5 ml);
- Tubos de vidro borosilicado (Kimax de 16 ml).

Reagentes:

- Ácido ascórbico (Merck Biosciences, Alemanha);
- Água ultra-pura (MiliQ, Tipo I);
- n-Hexano p.a (Merck Biosciences, Alemanha);
- Etanol absoluto (99.8% puro; AGA, Portugal);
- Butylated hydroxytoluene (BHT; Merck Biosciences, Alemanha);
- Sulfato sódio anidro (Merck Biosciences, Alemanha);
- Azoto Grau R (Gasin, Portugal);
- Isopropanol p.a. (Merck Biosciences, Alemanha).

Soluções preparadas extemporaneamente (no início da semana de trabalho ou quando necessárias):

- Solução de saponificação: solução KOH (Merck,) 11% (w/v) em etanol absoluto 55% (v/v) e água ultra-pura 45% (v/v);
- Solução de n-Hexano com antioxidante (BHT na concentração de 25 mg/l);
- Solução móvel para HPLC (1% de Isopropanol em n-Hexano).

4.2.4.1. Processo de saponificação e extração

A técnica de saponificação e extração foi realizada de acordo com o método descrito por Prates *et al.*, (2006). Resumidamente, cada amostra foi processada em duplicado de acordo com o seguinte protocolo: pesou-se 0,75 g de carne fresca para tubos de vidro borosilicado (com volume de 16 ml). Posteriormente, adicionou-se 0,20 g de ácido ascórbico e 5,5 ml de solução de saponificação, agitando-se os tubos de imediato, de modo a evitar a aglomeração dos fragmentos da amostra, e substituindo o ar dos tubos por azoto, tendo estes sido novamente agitados no vortex até à dissolução completa do ácido ascórbico. A saponificação ocorreu com a permanência dos tubos em banho-maria a 80 °C com agitação a 200 rpm, durante 15 minutos, sendo depois arrefecidos em água fria durante 1 minuto. Após estarem arrefecidos, aos tubos foi-lhes adicionado 1,5 ml de água destilada e 3 ml de n-Hexano tendo sido depois agitados vigorosamente no vórtex durante 2 minutos. Procedeu-se à centrifugação (5 minutos a 1500 rpm). Após esta, aspirou-se a fase superior (contendo o n-Hexano) para novos tubos de vidro borosilicado aos quais se adicionou 0,10 g de sulfato sódio anidro. Os tubos foram agitados em vórtex durante 10 segundos tendo sido depois o seu conteúdo líquido transferido para uma seringa de vidro acoplada a um filtro de seringa hidrófobo que foi utilizado para filtrar o n-Hexano tendo este sido posteriormente transferido para os viais âmbar de 1,5 ml com septos de teflon.

Os viais foram seguidamente armazenados numa caixa à temperatura de -20 ° C até conclusão das análises.

4.2.4.2. Análise por Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

Equipamento:

- Injetor automático AS-2057; uma bomba quaternária PU-2089; um detector UV-Vis de fotodíodos MD-2018 acoplado a um detector de fluorescência FP-2020 (Jasco, Japan);
- *Software* JASCO-Chrom NAV Chromatography (Jasco, Japan).

Reagentes:

- Fase móvel de *n*-Hexano: 1,4 -Dioxano (98.7:1.3) com um fluxo de 0,7 ml/min.

4.2.4.3. Análise

A análise da vitamina E em carne foi realizada através de uma coluna de sílica de fase normal Supelcosil™ LC-SI (75 cm x 3 mm, com tamanho de partícula de 3 µm) (Supelco, Bellefonte, PA) e de um detector de fluorescência para tococromanóis (excitação a um comprimento de onda de 290 nanómetros (nm) e emissão a 330 nm). Este método teve um tempo de corrida de 15 minutos e a temperatura da coluna foi ajustada para 20 °C. O volume de injeção usado oscilou entre os 20 e os 100 µl, dependendo dos compostos em análise e para que as áreas dos picos dos cromatogramas estivessem dentro do intervalo de valores usado na construção da curva de calibração.

A metodologia utilizada para a quantificação dos compostos foi a curva de calibração, em vez da que foi realizada através da relação entre a área do pico da curva padrão e a concentração. A identificação molecular específica foi efectuada através da relação entre o tempo de retenção das amostras e dos padrões. As amostras foram validadas com um coeficiente de variação <10%, uma vez que as amostras foram realizadas em duplicado.

4.3. Análise estatística

O processamento de dados foi elaborado por meio de um *software* de folha de cálculo (Excel® 2013, Microsoft, Redmond, WA, USA) e um *software* de computação e gráficos estatísticos (SAS Institute Inc.,).

Todos os valores apresentados para cada parâmetro são arredondados à segunda casa decimal. Os diferentes parâmetros em estudo foram analisados usando o PROC MIXED do *Statistical Analysis Systems Institute* (SAS, 2004), considerando diferentes análises estatísticas, nomeadamente:

1. O efeito da suplementação (S), da maturação (M) e a interacção da suplementação com a maturação (S*M);
2. O efeito da suplementação (S), do tempo de prateleira (P) e a interacção da suplementação da suplementação com o tempo de prateleira (S*P);
3. O efeito da maturação (M), do tempo de prateleira (P) e a interacção da maturação com o tempo de prateleira (M*P).

Dado que a utilização de diferentes “carnes” (não maturada/maturada) do mesmo animal e a utilização de diferentes tempos de prateleira de amostras da mesma peça não representam um conjunto de observações independentes, o tipo de carne e os tempos de prateleira foram analisados como uma medida repetida do mesmo animal. As médias dos quadrados mínimos foram apresentadas e comparadas, usando o teste LSD, quando foi observada interacção estatisticamente significativa entre duas variáveis ($P < 0,05$).

5. Resultados

5.1. pH

Neste estudo foram realizadas 480 medições de pH, correspondendo a 240 amostras, uma vez que em cada amostra foi medido 2 vezes.

A carne que esteve sujeita a tempo de maturação, apresentou valores médios de pH ligeiramente mais elevados comparativamente à carne não maturada (Tabela 2) e ambos se encontram dentro do intervalo óptimo de pH (5,5-5,8).

Tabela 2 - Análise estatística descritiva dos valores de pH em carne não maturada e maturada.

	pH	
	Não Maturada	Maturada
Mínimo	5,54	5,53
Mediana	5,67	5,71
Média	5,68	5,72
Máximo	6,06	6,10
Desvio padrão	0,08	0,08

5.2. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação da carne sobre os teores de α - e γ - tocoferol da carne

Os efeitos da suplementação da dieta com vitamina E (α -tocoferol) e do tempo de maturação da carne sobre os teores de α -tocoferol e γ -tocoferol no músculo LL são apresentados na Tabela 3.

A suplementação da dieta com vitamina E influenciou de forma muito significativa a concentração de α -tocoferol no músculo LL ($P < 0,001$), tendo a carne dos animais cuja ração foi suplementada apresentado praticamente o dobro do teor de α -tocoferol relativamente à carne dos animais do grupo controlo (5,0 *versus* 2,6 $\mu\text{g/g}$ de carne). Em relação à concentração de γ -tocoferol no músculo LL, a suplementação da dieta com vitamina E não apresentou influência significativa ($P=0,42$), tendo a carne de ambos os grupos apresentado um teor médio de 0,69 $\mu\text{g/g}$ de carne.

A maturação da carne (7 dias) não influenciou de forma significativa os teores de α -tocoferol e γ -tocoferol ($P > 0,05$). Não se observou a ocorrência de interações estatisticamente significativas entre a suplementação e a maturação ($P > 0,05$) tanto nos teores de α -tocoferol como nos de γ -tocoferol.

Tabela 3 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e o efeito da maturação nos teores dos principais homólogos da vitamina E na carne de bovino.

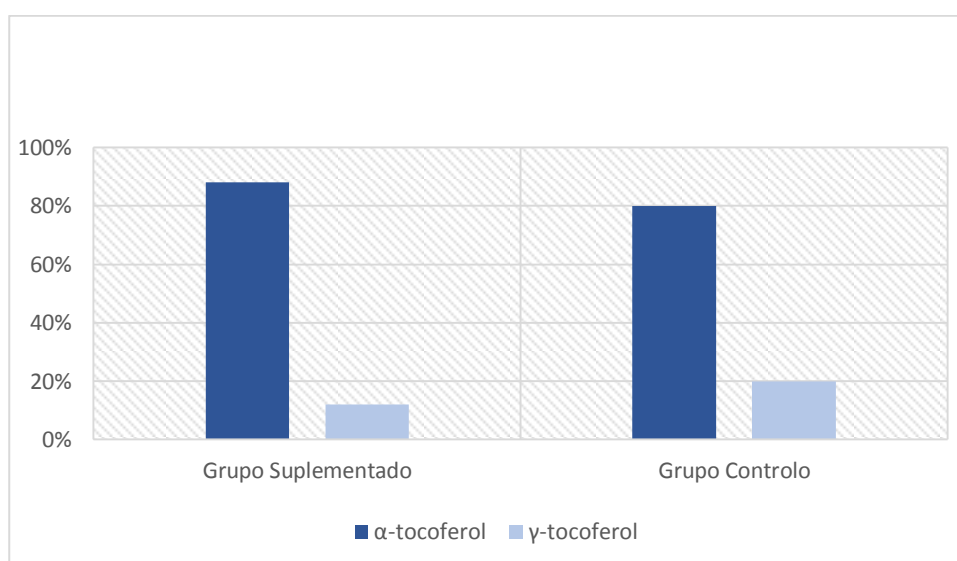
	Suplementação		Maturação		Estatística			
	Controlo	Suplementado	Não	Sim	RSD	S ¹	M ²	S*M
α -tocoferol (γ /g de carne)	2,63	5,04	3,86	3,82	0,45	<0,001	0,89	0,30
γ - tocoferol (γ /g de carne)	0,68	0,69	0,69	0,69	0,01	0,42	0,93	0,46

1- Suplementação com Vitamina E

2- Maturação de 7 dias

O α -tocoferol é o principal homólogo da vitamina E na carne de bovino, representando 80% do total de vitamina E no grupo controlo e 88% no grupo suplementado (Figura 17).

Figura 17 - Representação gráfica do valor percentual de α - e γ -tocoferol no teor total de vitamina E.



5.3. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre os teores de α - e γ - tocoferol da carne

O efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira a que a carne foi sujeita sobre os teores de α - e γ - tocoferol é apresentado na Tabela 4.

A suplementação da dieta e o tempo em prateleira influenciaram de forma muito significativa os teores de α -tocopherol presentes no músculo LL ($P < 0,001$). No entanto, o teor de γ -tocopherol foi apenas influenciado significativamente ($P < 0,001$) pelo tempo em prateleira. Não ocorreram interações estatisticamente significativas entre a suplementação da dieta e o tempo em prateleira ($P > 0,05$) tanto nos teores de α -tocopherol como nos de γ -tocopherol.

Tabela 4- Efeito da suplementação de vitamina E na dieta e do tempo em prateleira sobre os teores dos principais homólogos da vitamina E na carne de bovino.

	Controlo			Suplementado			Estatística			
	0	6	12	0	6	12	RSD	S ¹	P ²	S*P
α -tocopherol (γ /g de carne)	3,62	2,72	1,70	5,39	5,19	4,49	0,26	<0,001	<0,001	0,35
γ - tocoferol (γ /g de carne)	0,75	0,69	0,63	0,73	0,71	0,65	0,01	0,66	<0,001	0,14

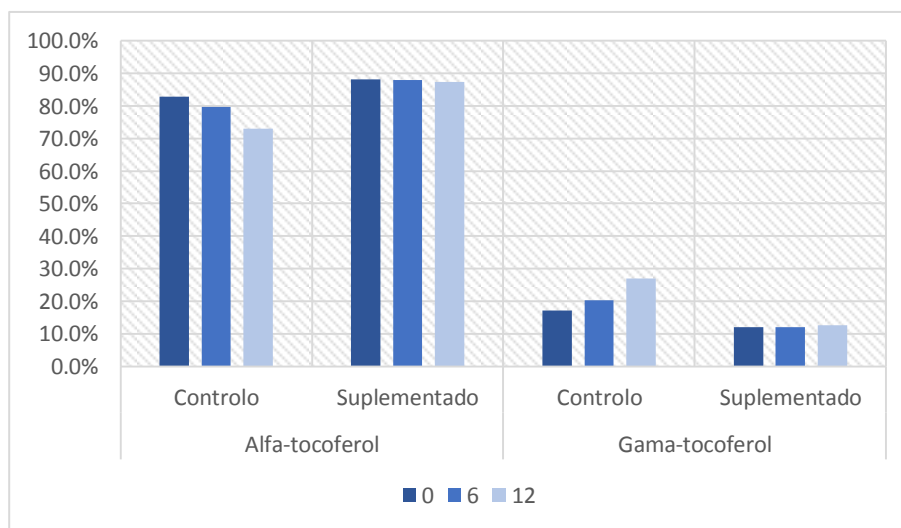
1- Suplementação com vitamina E

2- Tempo em prateleira

A carne dos animais do grupo com alimento suplementado com vitamina E revelou uma maior estabilidade oxidativa comparativamente à dos animais do grupo controlo, na medida em que o decréscimo no teor de α -tocopherol ao longo dos dias em prateleira é inferior em relação à do grupo de animais controlo, tanto entre o dia 0 e o dia 6 (24,9% para o grupo controlo *versus* 3,7% para o grupo suplementado) como entre o dia 6 e 12 (37,5% *versus* 13,5%, respectivamente para o grupo controlo e suplementado).

A percentagem de α -tocopherol no teor total de vitamina E presente na carne dos animais do grupo controlo, para além de ser mais baixa, também decresce mais acentuadamente ao longo dos dias em prateleira comparativamente ao outro grupo (Figura 18).

Figura 18 - Representação gráfica do valor percentual de α - e γ -tocoferol no teor total de vitamina E e do seu decréscimo ao longo dos dias em prateira.



5.4. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação da carne sobre a força de corte

O efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação sobre a força de corte determinada pelo teste de WBSF está presente na Tabela 5.

É possível verificar que a suplementação da dieta com vitamina E não tem influência significativa ($P=0,33$) na força de corte. Já o tempo de maturação a que a carne é sujeita (7 dias) influencia significativamente ($P < 0,05$) a força necessária para o corte.

Não se verificaram interações estatisticamente significativas ($P > 0,05$) entre a suplementação da dieta com vitamina E e o tempo de maturação sobre a força de corte da carne.

Tabela 5 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação na força de corte da carne de bovino.

	Suplementação		Maturação		Estatística			
	Controlo	Suplementado	Não	Sim	RSD	S ¹	M ²	S*M
WBSF	7,51	6,32	7,38	6,43	8,93	0,33	0,02	0,21

1- Suplementação com vitamina E

2- Maturação de 7 dias

5.5. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino

Na Tabela 6 está representado o efeito que a suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação têm sobre os parâmetros colorimétricos da carne, nomeadamente a luminosidade (L^{*}), a intensidade de vermelho (a^{*}) e a intensidade de amarelo (b^{*}).

A maturação não apresenta influência significativa ($P > 0,05$) em nenhum dos parâmetros de colorimetria. A suplementação da dieta com vitamina E influenciou de forma muito significativa ($P < 0,001$) a a^{*}, não tendo influência significativa ($P > 0,05$) nos restantes parâmetros. Não se observou nenhuma interação estatisticamente significativa ($P > 0,05$) entre o tempo de maturação e o tempo de prateleira sobre os diferentes parâmetros colorimétricos da carne.

Tabela 6 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação nos parâmetros colorimétricos da carne de bovino.

	Suplementação		Maturação		Estatística			
	Controlo	Suplementado	Não	Sim	RSD	S ¹	M ²	S*M
L [*]	35,38	32,61	32,32	35,67	1,95	0,31	0,18	0,36
a [*]	13,78	17,86	15,60	16,03	0,42	<0,001	0,51	0,21
b [*]	3,29	3,86	3,52	3,63	0,28	0,16	0,71	0,79

1- Suplementação com vitamina E

2- Maturação de 7 dias

5.6. Efeito do tempo de maturação e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino

O efeito da maturação e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne está representado na Tabela 7.

É possível verificar que a maturação não influenciou de forma significativa ($P > 0,05$) os parâmetros colorimétricos da carne, independentemente dos dias em prateleira a que a carne foi sujeita. Comparando os valores de L^* , a^* e b^* da carne maturada com os da carne não maturada no dia zero, apura-se que são extremamente semelhantes apesar da carne maturada de dia zero ter mais sete dias de exposição (devido à maturação) que a carne não maturada com zero dias de prateleira.

O tempo em prateleira, apesar de não influenciar de forma considerável a luminosidade da carne ($P = 0,33$), tem uma influência muito significativa na intensidade de vermelho e na intensidade de amarelo ($P < 0,001$).

Foi observada a existência de uma interação estatisticamente significativa ($P < 0,001$) entre a maturação e o tempo em prateleira sobre a intensidade de vermelhos da cor da carne.

Tabela 7 - Efeito do tempo de maturação e do tempo em prateleira a que a carne foi sujeita sobre os parâmetros colorimétricos do músculo *longissimus lumborum*.

	Não Maturado			Maturado			Estatística			
	0	6	12	0	6	12	RSD	M ¹	P ²	M*P
L^*	32,28	32,67	32,06	32,59	40,72	34,09	2,21	0,17	0,33	0,42
a^*	19,14 ^a	16,47 ^b	10,81 ^d	19,22 ^a	13,39 ^c	15,24 ^{b,c}	0,55	0,34	<0,001	<0,001
b^*	1,88	3,73	4,92	1,99	4,35	4,51	0,25	0,62	<0,001	0,16

1- Suplementação com vitamina E

2- Tempo de prateleira

A diferentes supra-escritos na mesma linha correspondem diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$)

5.7. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino

Na Tabela 8 é possível observar os efeitos da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne.

O fato de a ração ser suplementada com vitamina E tem uma influência muito significativa ($P < 0,001$) sobre a intensidade de vermelhos da carne, independentemente do tempo em prateleira a que a carne é sujeita. O mesmo não se verifica com os restantes parâmetros ($P > 0,05$).

Em relação ao tempo em prateleira a que a carne é sujeita, é possível observar que esta influencia muito significativamente ($P < 0,001$) a a^* e b^* , mas que não apresenta influência significativa sobre a L^* da carne. É possível ainda verificar que os valores de a^* da carne suplementada se mantêm mais elevados ao longo do tempo de prateleira em relação aos da carne controlo ou seja têm uma taxa de decréscimo menor (Figura 19).

Na intensidade de vermelhos foi detectada a existência de uma interação estatisticamente significativa ($P < 0,001$) entre a suplementação da dieta e o tempo em prateleira.

Tabela 8 - Efeito que a suplementação da dieta com vitamina E e que o tempo em prateleira a que a carne é sujeita têm sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino.

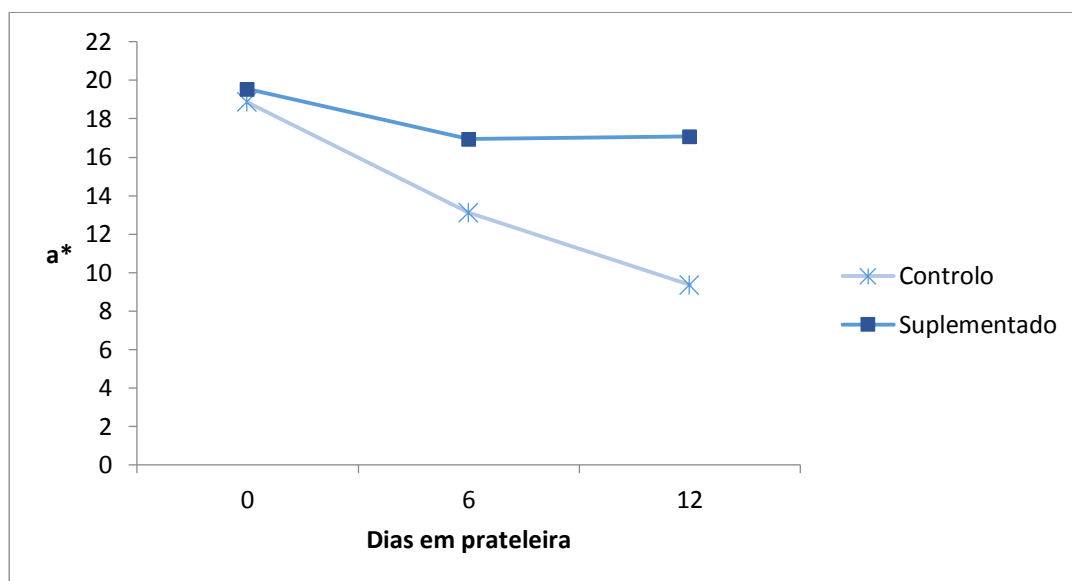
	Controlo			Suplementado			Estatística			
	0	6	12	0	6	12	RSD	S ¹	P ²	S*P
L*	32,41	40,42	33,31	32,46	32,57	32,80	2,23	0,31	0,37	0,36
a*	18,85 ^a	13,11 ^b	9,36 ^b	19,54 ^a	16,94 ^a	17,08 ^a	0,45	<0,001	<0,001	<0,001
b*	1,61	3,60	4,66	2,29	4,52	4,77	0,28	0,16	<0,001	0,30

1- Suplementação com vitamina E

2- Tempo de prateleira

A diferentes supra-escritos na mesma linha correspondem diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$).

Figura 19 - Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre a intensidade de vermelho.



6. Discussão

6.1. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e da maturação sobre os teores de α - e γ - tocoferol da carne

A suplementação da dieta com vitamina E influenciou de forma muito significativa a concentração de α -tocoferol na carne, uma vez que se verificou um acréscimo dos teores de α -tocoferol no músculo LL dos animais suplementados comparativamente aos dos animais do grupo de controlo, em conformidade com os resultados de estudos prévios similares (Chan *et al.*, 1996; Faustman *et al.*, 1998; Gatellier, Hamelin, Durand & Renerre, 2001; Juárez *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 1995; O'Grady *et al.*, 2001; Schwarz *et al.*, 1998; Smith, Morgan, Sofos & Tatum, 1996; Yang, Brewster, Lanari & Tume, 2002).

O acréscimo do teor de α -tocoferol na carne, verificado por via da suplementação da dieta com vitamina E (2,41 $\mu\text{g/g}$ de carne), leva a que a sua concentração (5,04 $\mu\text{g/g}$ de carne) se encontre dentro das recomendações de um teor mínimo necessário para a retardação da oxidação lipídica na carne de bovino ($\geq 3,5$ $\mu\text{g/g}$ de carne) (Faustman *et al.*, 1989b; Mitsumoto *et al.*, 1991), o que não se observou na concentração presente na carne dos animais do grupo controlo (2,63 $\mu\text{g/g}$ de carne). Existem alguns estudos que afirmam que a carne de animais “acabados” em pasto possui níveis mais elevados de α -tocoferol comparativamente à dos animais com acabamento à base de concentrado suplementado com vitamina E (De la Fuente *et al.*, 2009; Descalzo *et al.*, 2005; Descalzo & Sancho, 2008; Insani *et al.*, 2008; Realini, Duckett, Brito, Dalla Rizza & De Mattos, 2004). Daley *et al.* (2010) descrevem que a carne de animais acabados em pasto possui teores de α -tocoferol que variam de 2,1 a 7,73 $\mu\text{g/g}$ de carne e que a carne de animais acabados à base de concentrado suplementado com vitamina E possui teores de α -tocoferol que variam de 0,75 a 2,92 $\mu\text{g/g}$ de carne, contudo, deve-se ter em conta o fato dos níveis de vitamina E presentes na pastagem dependerem da composição florística do pasto e do seu estadio de desenvolvimento, razão pela qual o acabamento em pasto não poder ser uma garantia de níveis adequados de α -tocoferol na carne. Por outro lado, a suplementação do alimento concentrado pode ser realizada com diferentes teores de vitamina E, que podem garantir ou não o nível desejado de α -tocoferol na carne. Como nota de exemplo, no presente estudo, o teor de vitamina E suplementado no alimento concentrado (2222 UI/kg de ração) era aproximadamente o dobro do maior teor observado nos estudos anteriormente referidos (1000 UI/kg de ração).

A suplementação da dieta com vitamina E não tem influência nos teores de γ -tocoferol, uma vez que, apesar de comercialmente se denominar suplementação com vitamina E, na prática, apenas é adicionado à ração α -tocoferol, daí os teores de γ -tocoferol na carne serem praticamente iguais entre os animais do grupo de controlo e do grupo suplementado.

6.2. Efeito da suplementação da dieta e do tempo em prateleira nos teores de α - e γ - tocoferol da carne

Os teores de α - e γ - tocoferol presentes na carne vão decrescendo com o passar do tempo, e a sua velocidade de depleção depende do equilíbrio entre os factores antioxidantes e pró-oxidantes presentes na carne (Arnold *et al.*, 1993a). Para um determinado músculo de uma determinada espécie, a velocidade de depleção da vitamina E depende essencialmente da sua concentração inicial, uma vez que elevados níveis de α -tocoferol na carne retardam fortemente o processo de oxidação, conferem à carne uma maior estabilidade oxidativa e, por consequência, maior estabilidade cromática, permitindo um maior tempo de exposição em prateleira.

Foi pretendido avaliar se a adição de vitamina E à dieta dos animais retardava este decréscimo. De fato, e de acordo com os resultados de estudos prévios (Arnold *et al.*, 1992; Arnold, Scheller, Arp, Williams & Schaefer, 1993b; Faustman, Cassens, Schaefer, Buege & Scheller, 1989a; Faustman *et al.*, 1989b; Gatellier *et al.*, 2001; Houben, van Dijk, Eikelenboom & Hoving-Bolink, 2000; Lawlor, Sheehy, Kerry, Buckley & Morrissey, 2000; Liu *et al.*, 1995; Mitsumoto *et al.*, 1991; Mitsumoto, Ozawa, Mitsunashi & Koide, 1998; O'Grady *et al.*, 2001; Skřivanová, Marounek, De Smet & Raes, 2007; Smith *et al.*, 1996), a carne dos animais cuja ração foi suplementada apresentou maiores concentrações de α -tocoferol, que conduzem à retardação da oxidação lipídica e implicitamente a menores taxas de decréscimo dos teores de vitamina E ao longo do tempo em prateleira, comparativamente à carne dos animais do grupo controlo. Este retardamento na taxa de decréscimo dos teores de vitamina E na carne deve-se único e exclusivamente à suplementação da dieta, uma vez que esta foi a única diferença existente entre as amostras, já que todos os outros parâmetros foram iguais (raça, sexo, composição base da ração, condições de acabamento dos animais, condições de transporte para o matadouro, tempo de espera na abegoaria, condições de abate, condições e tempo de armazenamento das amostras; etc).

6.3. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação sobre a força de corte da carne

A carne de animais cuja dieta foi suplementada com vitamina E, apesar de não ter tido significância estatística na força de corte, está descrito que a aplicação de vitamina E na dieta leva a um aumento no efeito da maturação da carne e consequentemente a uma maior tenrura e diminuição da força de corte (Carnagey *et al.*, 2008). O fato deste parâmetro não ter tido significância estatística pode ser justificado pelo reduzido número de amostras ($n=40$).

O tempo de maturação a que a carne foi sujeita teve uma influência significativa na força de corte (valores de WBSF) da carne reduzindo o seu valor, independentemente se a carne pertencia a animais do grupo suplementado ou a animais do grupo controlo, apesar do tempo de maturação aplicado no presente estudo ser reduzido quando comparado a tempos de maturação aplicados noutros estudos ou usados comercialmente noutros países. Isto pode dever-se ao fato das carcaças do presente estudo terem sofrido estimulação elétrica, a qual pode conduzir a uma melhor resposta ao tempo de maturação (King *et al.*, 2004). Franco *et al.* (2009) descrevem que a estimulação elétrica apresenta um efeito potenciador do tempo de maturação, melhorando a tenrura da carne e apresentando valores de WBSF mais baixos relativamente a carnes com tempo de maturação semelhante mas com ausência de estimulação eléctrica (3,4 *versus* 4,0 kg).

Franco *et al.* (2009) também referem que a carne de animais que sofreram estimulação elétrica apresenta um pH_u mais baixo comparativamente à carne de animais que não sofreram estimulação elétrica (5,45 *versus* 5,60). Estes valores, inferiores aos do presente estudo (5,72; 5,68) podem ser justificados pela diferença de género dos animais, uma vez que os animais estudados por Franco *et al.* (2009) eram machos castrados e os animais do presente estudo machos inteiros. Este efeito deve-se muito provavelmente à maior propensão para conflitos no estabelecimento de novas hierarquias durante o período de pré-abate dos machos inteiros (Broom, 2007; Partida, Olleta, Campo, Sañudo & María, 2007).

O fato do tempo de maturação ter influência sobre os valores de WBSF, diminuindo-os, vai de encontro ao que era expetável e ao que está descrito em estudos semelhantes (George-Evins, Unruh, Waylan & Marsden, 2004; Gruber *et al.*, 2006; Huff & Parrish, 1993; King *et al.*, 2004).

Apenas como nota de interesse, uma vez que tanto a carne maturada como a carne não maturada do presente estudo sofreram estimulação elétrica e provêm do mesmo músculo e da

mesma raça, está descrito por Stolowski *et al.* (2006) que o tipo de músculo e o tipo de raça têm influência sobre a tenrura e consequentemente sobre os valores de WBSF, sendo o músculo LL o que apresenta menores valores de WBSF e que animais cruzados da raça Angus apresentam menores valores de WBSF relativamente a animais cruzados com outras raças de carne.

6.4. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo de maturação sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino

O tempo de maturação a que a carne foi sujeita não teve influência sobre os parâmetros colorimétricos da carne (L^* ; a^* ; b^*), resultados que vão de encontro aos demonstrados por Ismail, Lee, Ko & Ahn (2008).

A suplementação da dieta com vitamina E conduz a um aumento dos teores de α -tocoferol presentes na carne, esse aumento implementa um retardamento da oxidação da MbO₂ (O'Grady *et al.*, 2001). Faustman *et al.* (1998) relatam que apesar do α -tocoferol parecer exercer o seu efeito estabilizador da cor da carne retardando indiretamente a oxidação da MbO₂ através da inibição direta da oxidação lipídica, é possível que existam mecanismos adicionais de um efeito protetor do α -tocoferol sobre a MbO₂ em casos de atmosfera modificada.

Uma maior estabilidade oxidativa da MbO₂ faz prevalecer uma cor da carne mais vermelha, daí que os resultados obtidos tenham sido nesse sentido, uma vez que a suplementação da dieta influenciou de forma muito significativa a intensidade de vermelhos, tendo a carne dos animais suplementados apresentado maiores valores de a^* em relação à carne dos animais controlo. Os resultados apresentados são semelhantes aos apresentados noutros estudos (Chan *et al.*, 1996; Lanari, Cassens, Schaefer & Scheller, 1993; Schwarz *et al.*, 1998). Contudo, Eikelenboom *et al.* (2000) e Gatellier *et al.* (2001) descrevem que a suplementação da dieta com vitamina E não influenciou a estabilidade da cor, e tal pode dever-se ao fato do nível de suplementação da dieta ser mais baixo que o do presente estudo ou ainda devido ao fato dos músculos avaliados (*psoas major* e *longissimus thoracis*) serem diferentes dos avaliados no presente estudo, podendo-se afirmar que o tipo de músculo tem influência sobre a susceptibilidade à ação da oxidação da MbO₂, sendo o músculo LL o menos susceptível à oxidação da MbO₂ (Chan *et al.*, 1996; Madhavi & Carpenter, 1993).

6.5. Efeito do tempo de maturação e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino

A maturação da carne de bovino é no caso do mercado nacional algo de difícil explicação. Mesmo depois do grupo Jerónimo Martins ter implementado e incentivado à maturação da carne de bovino da raça Angus, há quem continue a achar que o tempo de maturação, apesar de benéfico para o alcance de uma maior tenrura da carne, apresenta consequências nefastas para a durabilidade da mesma, e que isso representa quebras de comercialização com custos inerentes impossíveis de suportar. Tal descrença na maturação da carne resulta da ausência de formação técnica nesta área e falta de conhecimento e de experiência no mercado internacional da carne de bovino, onde a maturação da carne é considerada essencial.

Considerando a cor da carne como o principal parâmetro avaliado pelo consumidor no acto de compra (Mancini & Hunt, 2005), é fácil de entender a importância que este parâmetro representa no processo de comercialização da carne. Um dos objectivos do estudo foi avaliar se a maturação a seco da carne (7 dias) em câmara frigorífica influenciava a cor da carne de bovino ao longo do tempo de exposição em prateleira, por essa razão avaliaram-se os parâmetros colorimétricos da carne não maturada e maturada exposta em prateleira durante 0, 6 e 12 dias. Os resultados do estudo confirmam que, independentemente da suplementação da dieta com vitamina E, o tempo de maturação da carne não alterou de forma significativa os principais parâmetros colorimétricos da carne (L^* , a^* e b^*) no dia 0, ou seja do dia em que o bife é separado da peça.

Os parâmetros L^* e b^* revelaram não sofrer alterações significativas ao longo do tempo em prateleira por efeito do tempo de maturação. Contudo, o parâmetro a^* apresentou uma interacção com significância estatística entre a maturação e o tempo de prateleira, ou seja, a maturação da carne não influenciou a intensidade de vermelho no dia 0, mas o mesmo não se verificou nos dias 6 e 12 de prateleira. A cor da carne, e em particular a intensidade de vermelhos, como já foi descrito anteriormente, depende de diversos fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal. A interacção entre o tempo de maturação e o tempo em prateleira aqui apresentada sugere que poderão existir outros parâmetros a influenciar a^* , nomeadamente o fato da carne maturada apresentar um valor de pH médio superior à carne não maturada e consequentemente maior desenvolvimento microbiano que se cria ao longo do tempo em prateleira ou ainda estarem incluídos animais alimentados com suplementação de vitamina E (que como já foi verificado tem influência significativa sobre a^*).

Os valores de L*, a* e b* obtidos no presente estudo apresentam comportamento semelhante ao longo do tempo em prateleira comparativamente aos valores apresentados por Ismail *et al.*, (2008) (L* não é influenciado, a* e b* são influenciados, diminuindo ao longo do tempo em prateleira). No entanto os parâmetros colorimétricos apresentados por Ismail *et al.*, (2008) são mais elevados do que os do presente estudo como se pode comprovar na Tabela 9.

Tabela 9 - Comparação de valores colorimétricos do presente estudo com o estudo de Ismail *et al.*, (2008).

	Presente estudo				Ismail <i>et al.</i> , (2008)			
	Controlo		Suplementado		Controlo		Suplementado	
	0	6	0	6	0	6	0	6
L*	32,4	40,4	32,46	32,57	41,9	43,7	41,15	41,9
a*	18,9	13,1	19,54	16,94	20,3	12	23,3	15,5
b*	1,61	3,6	2,29	4,52	19	15	21,12	16,3

6.6. Efeito da suplementação da dieta com vitamina E e do tempo em prateleira sobre os parâmetros colorimétricos da carne de bovino

Neste capítulo procurou-se avaliar se a suplementação da dieta dos animais com Vitamina E influenciou os parâmetros colorimétricos da carne ao longo de diferentes tempos de exposição em prateleira. A suplementação de vitamina E revelou proporcionar uma maior estabilidade à intensidade de vermelho, que não sofreu um significativo decréscimo por influência do tempo de prateleira, decréscimo que foi possível verificar na carne não suplementada. A interação estatisticamente significativa observada na intensidade de vermelho deverá estar associada a diferenças no ritmo a que decorre a oxidação nas duas variedades.

7. Conclusão

O presente trabalho sugere que a suplementação da dieta de acabamento de bovinos com vitamina E é benéfica em termos comerciais, tendo em consideração que melhora a estabilidade oxidativa da carne, permitindo que esta apresente uma aparência apelativa durante mais tempo, o que se traduz em menores quebras de produto. No entanto, o músculo de onde proveio a carne avaliada (*longissimus lumborum*) está descrito como sendo o músculo que possui menor propensão à oxidação e consequentemente maior estabilidade oxidativa. Nesse sentido, a premissa de que a suplementação da dieta com vitamina E é uma mais-valia, ficaria muito mais rica se o mesmo fosse estudado em músculos diferentes.

No que respeita ao tempo de maturação a que a carne esteve sujeita, fica atestado pelo presente estudo que este ajuda a acentuar a ternura da carne (qualidade muito apetecida pelo consumidor). Todavia, ainda não é possível desmistificar que a maturação possa influenciar negativamente a sua cor porque isso está dependente de vários outros factores, revestindo-se assim de interesse a medição e o estudo de outros indicadores e tempos de maturação.

Após atestar que em termos de qualidade sensorial é uma mais-valia, é de todo o interesse o estudo do impacto económico que a suplementação com vitamina E na dieta de acabamento de bovinos e que o tempo de maturação têm na indústria cárnea. Desta forma, as grandes cadeias de distribuição terão argumentos para poderem influenciar e exigir à produção, um maior cuidado e atenção às necessidades do retalhista, conduzindo à progressão do mercado nacional a nível técnico/ideológico.

8. Bibliografia

- Abril, M., Campo, M. M., Önenç, A., Sañudo, C., Albertí, P. & Negueruela, A. I. (2001). Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*, 58(1), 69–78.
- Alasnier, C., Réminon, H. & Gandemer, G. (1996). Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Science*, 43(3–4), 213–224.
- Apple, J. K., Kegley, E. B., Galloway, D. L., Wistuba, T. J., Rakes, L. K. & Yancey, J. W. S. (2006). Treadmill exercise is not an effective methodology for producing the dark-cutting condition in young cattle. *Journal of Animal Science*, 84(11), 3079–3088.
- Aristoy, M. C. & Toldrá, F. (2009). Essential Amino Acids. In L. M. L. Mollet & F. Toldrá (Eds.), *Handbook of Muscle Foods Analysis*. Boca Raton: CRC Press.
- Arnold, R. N., Arp, S. C., Scheller, K. K., Williams, S. N. & Schaefer, D. M. (1993). Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*, 71(1), 105–118.
- Arnold, R. N., Scheller, K. K., Arp, S. C., Williams, S. N., Buege, D. R. & Schaefer, D. M. (1992). Effect of Long-or Short-Term Feeding of α -Tocopheryl Acetate to Holstein and Crossbred Beef Steers on Performance, Carcass Characteristics, and Beef Color Stability. *Journal of animal science-menasha then albany then champaign Illinois-*, 70, 3055–3055.
- Arnold, R. n., Scheller, K. k., Arp, S. c., Williams, S. n. & Schaefer, D. m. (1993). Dietary α -Tocopheryl Acetate Enhances Beef Quality in Holstein and Beef Breed Steers. *Journal of Food Science*, 58(1), 28–33.

- Ashmore, C. R., Tompkins, G. & Doerr, L. (1972). Postnatal development of muscle fiber types in domestic animals. *Journal of Animal Science*, 34(1), 37-41.
- Baublits, R. T., Brown Jr., A. H., Pohlman, F. W., Johnson, Z. B., Onks, D. O., Loveday, H. D., Pugh, R. B. (2004). Carcass and beef color characteristics of three biological types of cattle grazing cool-season forages supplemented with soyhulls. *Meat Science*, 68(2), 297–303.
- Becker, T. (2000). Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *British Food Journal*, 102(3), 158–176.
- Bekhit, A. E. D. & Faustman, C. (2005). Metmyoglobin reducing activity. *Meat Science*, 71(3), 407–439.
- Belitz, H. D., Grosh, W. & Schieberle, P. (2009). *Food chemistry* (4th Edition ed.). Heidelberg: Springer.
- Bjørneboe, A., Bjørneboe, G.E.A. & Drevon, C.A. (1990). Absorption, transport and distribution of vitamin E. *Journal of Nutrition*, 120, 233 – 242.
- Brigelius-Flohé, R., Kelly, F. J., Salonen, J. T., Neuzil, J., Zingg, J.-M. & Azzi, A. (2002). The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(4), 703–716.
- Brigelius-Flohé, R. & Traber, M. G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal*, 13(10), 1145–1155.
- Brooke MH & Kaiser KK. (1970). Muscle fiber types: How many and what kind? *Archives of Neurology*, 23(4), 369–379.

- Broom D.M. (2007). Welfare Assessment and Welfare Problem Areas During Handling and Transport. In T. Grandin, *Livestock Handling and Transport*, (3rd Edition). Wallingford: CABI.
- Buckley, D. J., Morrissey, P. A. & Gray, J. I. (1995). Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, 73(10), 3122–3130.
- Burton, G. W., Joyce, A. & Ingold, K. U. (1983). Is vitamin E the only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma and erythrocyte membranes? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 221(1), 281–290.
- Campo, M. M., Sañudo, C., Panea, B., Alberti, P. & Santolaria, P. (1999). Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks. *Meat Science*, 51(4), 383–390.
- Cannon, J. E., Morgan, J. B., Schmidt, G. R., Tatum, J. D., Sofos, J. N., Smith, G. C., ... Williams, S. N. (1996). Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with vitamin E. *Journal of Animal Science*, 74(1), 98–105.
- Carnagey, K. M., Huff-Lonergan, E. J., Trenkle, A., Wertz-Lutz, A. E., Horst, R. L. & Beitz, D. C. (2008). Use of 25-hydroxyvitamin D3 and vitamin E to improve tenderness of beef from the longissimus dorsi of heifers. *Journal of Animal Science*, 86(7), 1649–1657.
- Carpenter, C. E., Cornforth, D. P., & Whittier, D. (2001). Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Science*, 57(4), 359–363.
- Cassens, R. G. & Cooper, C. C. (1971). Red and White Muscle. In E. M. M. and G. F. S. C.O. Chichester (Ed.), *Advances in Food Research* (Vol. 19, pp. 1–74). Academic Press.

- Chan, W. K. M., Hakkarainen, K., Faustman, C., Schaefer, D. M., Scheller, K. K. & Liu, Q. (1996). Dietary vitamin E effect on color stability and sensory assessment of spoilage in three beef muscles. *Meat Science*, 42(4), 387–399.
- Cheng, Q. & Sun, D.-W. (2008). Factors Affecting the Water Holding Capacity of Red Meat Products: A Review of Recent Research Advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(2), 137–159.
- Chizzolini, R., Zanardi, E., Dorigoni, V. & Ghidini, S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(4–5), 119–128.
- Choi, Y. M. & Kim, B. C. (2009). Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science*, 122(2–3), 105–118.
- Clark, K. A., McElhinny, A. S., Beckerle, M. C. & Gregorio, C. C. (2002). STRIATED MUSCLE CYTOARCHITECTURE: An Intricate Web of Form and Function. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 18(1), 637–706.
- Costa, P., Roseiro, L.C., Bessa, R.J.B., Padilha, M., Partidário, A., Almeida, J.M., Calkins, C.R. & Santos, C. (2008). Muscle fiber and fatty acid profiles of Mertolenga-PDO meat. *Meat Science*, 78, 502-512.
- Culioli, J. (1995). Meat tenderness: mechanical assessment. In Ouali, A., Demeyer, D.I., Smulders, F.J.M. (Eds.), *Expression of Tissue Proteinases and Regulation of Protein Degradation as Related to Meat Quality*, ECCEAMST, Utrecht (1995), pp. 239–266.
- Daley, C. A., Abbott, A., Doyle, P. S., Nader, G. A. & Larson, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*, 9(1), 10.

- Decker, E. A., Faustman, C. & Lopez-Bote, C. J. (2000a). *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality*. John Wiley & Sons.
- Decker, E. A., Faustman, C. & Lopez-Bote, C. J. (2000b). *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality* (7th ed.). John Wiley & Sons.
- De Huidobro, F. R., Miguel, E., Blázquez, B. & Onega, E. (2005). A comparison between two methods (Warner–Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Science*, 69(3), 527–536.
- De la Fuente, J., Díaz, M. T., Álvarez, I., Oliver, M. A., Font i Furnols, M., Sañudo, C., ... Cañeque, V. (2009). Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Science*, 82(3), 331–337.
- De Man, J. M. (1999). *Principles of Food Chemistry* (third ed.): An Aspen Publication.
- Descalzo, A. M., Insani, E. M., Biolatto, A., Sancho, A. M., García, P. T., Pensel, N. A. & Josifovich, J. A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70(1), 35–44.
- Descalzo, A. M. & Sancho, A. M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 423–436.
- Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M. T. & Dal Molin, E. (2008). Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner–Bratzler shear force. *Meat Science*, 78(3), 153–156.
- Dinh, T. T. N., Thompson, L. D., Galyean, M. L., Brooks, J. C., Patterson, K. Y. & Boylan, L. M. (2011). Cholesterol Content and Methods for Cholesterol Determination in Meat and Poultry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(5), 269–289.

- Dirinck, P., De Winne, A., Casteels, M. & Frigg, M. (1996). Studies on Vitamin E and Meat Quality. 1. Effect of Feeding High Vitamin E Levels on Time-Related Pork Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 65–68.
- Dransfield, E., Bechet, D. & Ouali, A. (1994). Origins of variability in meat texture: an introduction to the workshop Proteolysis and meat quality. In *Sciences des Aliments (France)*.
- Dransfield, E., Jones, R. C. D. & MacFie, H. J. H. (1981). Tenderising in M. longissimus dorsi of beef, veal, rabbit, lamb and pork. *Meat Science*, 5(2), 139–147.
- Drevon, C. A. (1991). Absorption, Transport and Metabolism of Vitamin E. *Free Radical Research*, 14(4), 229–246.
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A. H., Kluitman, I., Houben, J. H. & Klont, R. E. (2000). Effect of dietary vitamin E supplementation on beef colour stability. *Meat Science*, 54(1), 17–22.
- Elmore, J. S., Mottram, D. S., Enser, M. & Wood, J. D. (1999). Effect of the Polyunsaturated Fatty Acid Composition of Beef Muscle on the Profile of Aroma Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1619–1625.
- Essén-Gustavsson, B., Karlström, K. & Lundström, K. (1992). Muscle fibre characteristics and metabolic response at slaughter in pigs of different halothane genotypes and their relation to meat quality. *Meat Science*, 31(1), 1–11.
- Faustman, C. & Cassens, R. g. (1990). The Biochemical Basis for Discoloration in Fresh Meat: A Review. *Journal of Muscle Foods*, 1(3), 217–243.
- Faustman, C., Cassens, R. g., Schaefer, D. m., Buege, D. r. & Scheller, K. k. (1989). Vitamin E Supplementation of Holstein Steer Diets Improves Sirloin Steak Color. *Journal of Food Science*, 54(2), 485–486.

- Faustman, C., Cassens, R. g., Schaefer, D. m., Buege, D. r., Williams, S. n. & Scheller, K. k. (1989). Improvement of Pigment and Lipid Stability in Holstein Steer Beef by Dietary Supplementation with Vitamin E. *Journal of Food Science*, 54(4), 858–862.
- Faustman, C., Chan, W. K., Schaefer, D. M. & Havens, A. (1998). Beef color update: the role for vitamin E. *Journal of Animal Science*, 76(4), 1019–1026.
- Font-i-Furnols, M. & Guerrero, L. (2014). Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*, 98(3), 361–371.
- Franco, J., Bianchi, G., Feed, O., Garibotto, G., Ballesteros, F., Bentancur, O., ... Chiruchi, J. (2009). Efecto de la estimulación eléctrica de la canal sobre la calidad de la carne de vacunos de pastoreo. *Relación de Artículos Publicados En ITEA Durante 2009*, 313.
- Gatellier, P., Hamelin, C., Durand, Y. & Renerre, M. (2001). Effect of a dietary vitamin E supplementation on colour stability and lipid oxidation of air- and modified atmosphere-packaged beef. *Meat Science*, 59(2), 133–140.
- George-Evins, C. D., Unruh, J. A., Waylan, A. T. & Marsden, J. L. (2004). Influence of quality classification, aging period, blade tenderization, and endpoint cooking temperature on cooking characteristics and tenderness of beef gluteus medius steaks. *Journal of Animal Science*, 82(6), 1863–1867.
- Glitsch, K. (2000). Consumer perceptions of fresh meat quality: cross-national comparison. *British Food Journal*, 102(3), 177–194.
- Grandin, T. & Tarrant, V. (2000). Cattle Transport. In *Livestock Handling and Transport*. CABI.
- Gray, J. I., Gomaa, E. A. & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43, Supplement 1, 111–123.

- Gruber, S. L., Tatum, J. D., Scanga, J. A., Chapman, P. L., Smith, G. C. & Belk, K. E. (2006). Effects of *postmortem* aging and USDA quality grade on Warner-Bratzler shear force values of seventeen individual beef muscles. *Journal of Animal Science*, 84(12), 3387–3396.
- Higgs, J. D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11(3), 85–95.
- Higley, N. A., Taylor, S. L., Herian, A. M. & Lee, K. (1986). Cholesterol oxides in processed meats. *Meat Science*, 16(3), 175–188.
- Hocquette, J. F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C. & Pethick, D. W. (2010). Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal*, 4(02), 303–319.
- Hollander, D. (1981). Intestinal absorption of vitamins A, E, D, and K. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 97(4), 449–462.
- Hood, D. E. & Mead, G. C. (1993). Modified atmosphere storage of fresh meat and poultry. In R. T. Parry (Ed.), *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods* (pp. 269–298). Springer US.
- Houben, J. H., van Dijk, A., Eikelenboom, G. & Hoving-Bolink, A. H. (2000). Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced beef. *Meat Science*, 55(3), 331–336.
- Huff, E. j. & Parrish, F. c. (1993). Bovine longissimus muscle tenderness as affected by *postmortem* aging time, animal age and sex. *Journal of Food Science*, 58(4), 713–716.
- Huff-Lonergan, E. & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194–204.

- Huff Lonergan, E., Zhang, W. & Lonergan, S. M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86(1), 184–195.
- Hwang, I. H., Devine, C. E. & Hopkins, D. L. (2003). The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science*, 65(2), 677–691.
- Immonen, K., Ruusunen, M., Hissa, K. & Puolanne, E. (2000). Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Science*, 55(1), 25–31.
- Insani, E. M., Eyherabide, A., Grigioni, G., Sancho, A. M., Pensel, N. A. & Descalzo, A. M. (2008). Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 444–452.
- Ismail, H. A., Lee, E. J., Ko, K. Y. & Ahn, D. U. (2008). Effects of aging time and natural antioxidants on the color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. *Meat Science*, 80(3), 582–591.
- Jensen, C., Guider, J., Skovgaard, I. M., Staun, H., Skibsted, L. H., Jensen, S. K., ... Bertelsen, G. (1997). Effects of dietary α -tocopheryl acetate supplementation on α -tocopherol deposition in porcine m. psoas major and m. longissimus dorsi and on drip loss, colour stability and oxidative stability of pork meat. *Meat Science*, 45(4), 491–500.
- Jensen, C., Lauridsen, C. & Bertelsen, G. (1998). Dietary vitamin E: Quality and storage stability of pork and poultry. *Trends in Food Science & Technology*, 9(2), 62–72.
- Juárez, M., Dugan, M. E. R., Aldai, N., Basarab, J. A., Baron, V. S., McAllister, T. A. & Aalhus, J. L. (2012). Beef quality attributes as affected by increasing the intramuscular levels of vitamin E and omega-3 fatty acids. *Meat Science*, 90(3), 764–769.
- Kemp, C. M., Sensky, P. L., Bardsley, R. G., Buttery, P. J. & Parr, T. (2010). Tenderness – An enzymatic view. *Meat Science*, 84(2), 248–256.

- King, D. A., Voges, K. L., Hale, D. S., Waldron, D. F., Taylor, C. A. & Savell, J. W. (2004). High voltage electrical stimulation enhances muscle tenderness, increases aging response, and improves muscle color from cabrito carcasses. *Meat Science*, 68(4), 529–535.
- Klont, R. E., Barnier, V. M. H., Smulders, F. J. M., Van Dijk, A., Hoving-Bolink, A. H. & Eikelenboom, G. (1999). Post-mortem variation in pH, temperature, and colour profiles of veal carcasses in relation to breed, blood haemoglobin content, and carcass characteristics. *Meat Science*, 53(3), 195–202.
- Klont, R. E., Brocks, L. & Eikelenboom, G. (1998). Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, 49, Supplement 1, S219 – S229.
- Koide, T. & Nagata, K. (2005). Collagen Biosynthesis. In J. Brinckmann, H. Notbohm & P. K. Müller (Eds.), *Collagen* (pp. 85–114). Springer Berlin Heidelberg.
- Koohmaraie, M. & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34–43.
- Koohmaraie, M., Kent, M. P., Shackelford, S. D., Veiseth, E. & Wheeler, T. L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science*, 62(3), 345–352.
- Krauss, R. M., Deckelbaum, R. J., Ernst, N., Fisher, E., Howard, B. V., Knopp, R. H., ... Weinberg, R. (1996). Dietary Guidelines for Healthy American Adults A Statement for Health Professionals From the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation*, 94(7), 1795–1800.
- Krauss, R. M., Eckel, R. H., Howard, B., Appel, L. J., Daniels, S. R., Deckelbaum, R. J., ... Bazzarre, T. L. (2000). AHA Dietary Guidelines Revision 2000: A Statement for

- Healthcare Professionals From the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*, 102(18), 2284–2299.
- Kropf, D. H. (1980). Effects of retail display conditions on meat color. *Proceedings Annual Reciprocal Meat Conference*.
- Kumar, N. & Singhal, O. P. (1991). Cholesterol oxides and atherosclerosis: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55(4), 497–510.
- Lahucky, R., Novotna, K., Zaujec, K., Mojto, J. & Pavlic & Roa, N. E. B. (2002). Effects of dietary vitamin E supplementation on α -tocopherol content and antioxidative status of beef muscles. *Czech Journal of Animal Science*, 47, 381–386.
- Lanari, M. C., Cassens, R. G., Schaefer, D. M. & Scheller, K. K. (1993). Dietary Vitamin E Enhances Color and Display Life of Frozen Beef from Holstein Steers. *Journal of Food Science*, 58(4), 701–704.
- Laster, M. A., Smith, R. D., Nicholson, K. L., Nicholson, J. D. W., Miller, R. K., Griffin, D. B. Savell, J. W. (2008). Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory attribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups. *Meat Science*, 80(3), 795–804.
- Lawlor, J. b., Sheehy, P. j. a., Kerry, J. p., Buckley, D. j. & Morrissey, P. a. (2000). Measuring Oxidative Stability of Beef Muscles Obtained from Animals Supplemented with Vitamin E Using Conventional and Derivative Spectrophotometry. *Journal of Food Science*, 65(7), 1138–1141.
- Lawrie, R. (1981). *Developments in meat science-2*. Applied Science Publishers.
- Lawrie, R. A. (1998). *Lawrie's Meat Science, Sixth Edition*. Woodhead Publishing.
- Lawrie, R. A. & Ledward, D. A. (2006). *Lawrie's meat science*. Woodhead Publishing Limited.

- Leedle, R. A., Leedle, J. A. & Butine, M. D. (1993). Vitamin E is not degraded by ruminal microorganisms: assessment with ruminal contents from a steer fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science*, 71(12), 3442–3450.
- Lee, S. H., Joo, S. T. & Ryu, Y. C. (2010). Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat Science*, 86(1), 166–170.
- Lefaucheur, L. (2010). A second look into fibre typing – Relation to meat quality. *Meat Science*, 84(2), 257–270.
- Lepetit, J. (2007). A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. *Meat Science*, 76(1), 147–159.
- Liu, Q., Lanari, M. C. & Schaefer, D. M. (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73(10), 3131–3140.
- Mach, N., Bach, A., Velarde, A. & Devant, M. (2008). Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Science*, 78(3), 232–238.
- Madhavi, D. L. & Carpenter, C. E. (1993). Aging and Processing Affect Color, Metmyoglobin Reductase and Oxygen Consumption of Beef Muscles. *Journal of Food Science*, 58(5), 939–942.
- Malenfant, P., Joanisse, D. R., Thériault, R., Goodpaster, B. H., Kelley, D. E. & Simoneau, J.-A. (2001). Fat content in individual muscle fibers of lean and obese subjects. *International Journal of Obesity*, 25(9), 1316–1321.
- Mancini, R. A. & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100–121.

- María, G. A., Villarroel, M., Sañudo, C., Olleta, J. L. & Gebresenbet, G. (2003). Effect of transport time and ageing on aspects of beef quality. *Meat Science*, 65(4), 1335–1340.
- Mitsumoto, M., Arnold, R. N., Schaefer, D. M. & Cassens, R. G. (1993). Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *Journal of Animal Science*, 71(7), 1812–1816.
- Mitsumoto, M., Cassens, R. g., Schaefer, D. m., Arnold, R. n. & Scheller, K. k. (1991). Improvement of Color and Lipid Stability in Beef Longissimus with Dietary Vitamin E and Vitamin C Dip Treatment. *Journal of Food Science*, 56(6), 1489–1492.
- Mitsumoto, M., Ozawa, S., Mitsuhashi, T. & Koide, K. (1998). Effect of dietary vitamin E supplementation for one week before slaughter on drip, colour and lipid stability during display in Japanese Black steer beef. *Meat Science*, 49(2), 165–174.
- Monahan, F. J. (2000). Oxidation of lipids in muscle foods: fundamental and applied concerns. In E. A. Decker, C. Faustman & C. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 3-23). New York: Wiley-Interscience.
- Monteiro, A. C. S. M. G. (2012). Relationship between Portuguese consumer preferences and textural properties, chemical composition and nutritional value of beef. Dissertação de Doutoramento. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa.
- Monteiro, A.C.G., Fontes, M.A., Lemos, J.P.C. & Prates, J.A.M. (2008). Quantification of L-Carnitine, cholesterol, tocopherols and β -carotene in three types of meat commercialized in Portugal: Carnalentejana-PDO, Undifferentiated and Imported. XVI *National Congress of Biochemistry*. 22-25 October, S. Miguel, Azores (p. 213).
- Moreno, B. (2006). *Higiene e inspección de carnes*. Madrid: Díaz de Santos.
- Morrissey, P. A., Buckley, D. J., Sheehy, P. J. A. & Monahan, F. J. (1994). Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53(02), 289–295.

- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62(4), 415–424.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Raats, J. G. & Strydom, P. E. (2008). Meat quality of Nguni, Bonsmara and Aberdeen Angus steers raised on natural pasture in the Eastern Cape, South Africa. *Meat Science*, 79(1), 20–28.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A. & Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, 112(2), 279–289.
- Muir, P. D., Wallace, G. J., Dobbie, P. M. & Bown, M. D. (2000). A comparison of animal performance and carcass and meat quality characteristics in Hereford, Hereford × Friesian, and Friesian steers grazed together at pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 43(2), 193–205.
- Nishimura, T. (2010). The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *Animal Science Journal*, 81(1), 21–27.
- Nishimura, T., Liu, A., Hattori, A. & Takahashi, K. (1998). Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem aging of beef. *Journal of Animal Science*, 76(2), 528–532.
- Oddy, V. H., Harper, G. S., Greenwood, P. L. & McDonagh, M. B. (2001). Nutritional and developmental effects on the intrinsic properties of muscles as they relate to the eating quality of beef. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(7), 921–942.
- O’Grady, M. N., Monahan, F. J., Fallon, R. J. & Allen, P. (2001). Effects of dietary supplementation with vitamin E and organic selenium on the oxidative stability of beef. *Journal of Animal Science*, 79(11), 2827–2834.

- Ouali, A. (1990). Meat Tenderization: Possible Causes and Mechanisms. A Review. *Journal of Muscle Foods*, 1 (2), 129 – 165.
- Ouali, A. (1991). Sensory quality of meat as affected by muscle biochemistry and modern technologies. In *Developments in Animal and Veterinary Sciences (Netherlands)*. Elsevier Science Publishers.
- Ouali, A., Demeyer, D. & Raichon, C. (1992). An introduction to the workshop. *Biochimie*, 74 (3), 213 – 215.
- Owens, F. N., Gill, D. R., Secrist, D. S. & Coleman, S. W. (1995). Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 73(10), 3152–3172.
- Palozza, P., Krinsky, N. I. (1992). Beta-carotene and alfa-tocopherol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 297: 184-187.
- Partida, J. A., Olleta, J. L., Campo, M. M., Sañudo, C. & María, G. A. (2007). Effect of social dominance on the meat quality of young Friesian bulls. *Meat Science*, 76(2), 266–273.
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J. & Hopkins, D. L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes — A review. *Meat Science*, 89(2), 111–124.
- Pearson, A. M. (1994) – La función muscular y los câmbios *postmortem*. In Price, J. F. & Schweigert, B. S. – *Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos*. Tradução de Juan Luis de la Fuente. 2ª Edição. Zaragoza: Editorial Acribia, S. A., 1994. Tradução do original: The Science of Meat and Meat Products (3rd edition). ISBN 84-200-0759-5. P. 139-173.
- Prates, J. A., Gonçalves Quaresma, M. A., Branquinho Bessa, R. J., Andrade Fontes, C. M. G. & Mateus Alfaia, C. M. P. (2006). Simultaneous HPLC quantification of total

cholesterol, tocopherols and β -carotene in Barrosã-PDO veal. *Food Chemistry*, 94(3), 469–477.

Prates, J. A. M. (2000). Contribuição para o estudo do papel da actividade péptido hidrolásica (EC 3.4) na maturação da carne refrigerada: Estudo Experimental no coelho (*Oryctolagus cuniculus L.*). Dissertação de Doutoramento. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa.

Puolanne, E. & Halonen, M. (2010). Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Science*, 86 (1), 151 – 165.

Purslow, P. P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70 (3), 435 – 447.

Quali, A. (1992). Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, 74 (3), 251 – 265.

Quaresma, M. A. G., Trigo Rodrigues, I., Pereira Silva, R., Santos, N., Breda, J., Bessa, R. J. B., et al. (2008). Vitamin E homologues in wild boar meat from Montado. *Paper presented at the International Congress Of Meat Science and Technology*.

Realini, C. E., Duckett, S. K., Brito, G. W., Dalla Rizza, M. & De Mattos, D. (2004). Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science*, 66(3), 567–577.

Renner, M. (2000). Oxidative processes and myoglobin. In E. Dekker, C. Faustman & C. J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 113–133). New York, NY: John Wiley.

Renner, M., Dumont, F. & Gatellier, P. (1996). Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Science*, 43(2), 111–121.

- Renou, J.-P., Canioni, P., Gatelier, P., Valin, C. & Cozzone, P. J. (1986). Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance study of post mortem catabolism and intracellular pH in intact excised rabbit muscle. *Biochimie*, 68(4), 543–554.
- Ribeiro, A. P. F. (2013). Perfil nutricional da fracção lipídica da carne de aves cinegéticas (perdiz, faisão, pato). Retrieved from <http://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/5969>.
- Rosser, B. W., Norris, B. J. & Nemeth, P. M. (1992). Metabolic capacity of individual muscle fibers from different anatomic locations. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 40(6), 819–825.
- Sahin, S. & Sumnu, S. G. (2006). Rheological properties of foods. In: D. R. Heldman (Ed.), *Physical properties of foods. Food science text series*. (1st ed.) (pp. 39-106). New York USA, Springer.
- Salvatori, G., Pantaleo, L., Di Cesare, C., Maiorano, G., Filetti, F. & Oriani, G. (2004). Fatty acid composition and cholesterol content of muscles as related to genotype and vitamin E treatment in crossbred lambs. *Meat Science*, 67(1), 45–55.
- Sañudo, C., Macie, E. S., Olleta, J. L., Villarroel, M., Panea, B. & Albertí, P. (2004). The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science*, 66(4), 925–932.
- Schmid, A. (2011). The role of meat fat in the human diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 50-66.
- Schneider, C. (2005). Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(1), 7–30.
- Schwarz, F. J., Augustini, C., Timm, M., Kirchgeßner, M. & Steinhart, H. (1998). Effect of vitamin E on α -tocopherol concentration in different tissues and oxidative stability of bull beef. *Livestock Production Science*, 56(2), 165–171.

- Sentandreu, M. A., Coulis, G. & Ouali, A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology*, 13(12), 400–421.
- Shahidi, F. 1998. Flavor of muscle foods: an overview. In F. Shahidi (Ed.) *Flavor of Meat, Meat Products, and Seafoods*. London, UK: Blackie Academic and Professional.
- Silvestre, M. M. & Lidon, F. (2009). *Princípios de Alimentação e Nutrição Humana*: Escolar Editora.
- Skibsted, L.H., Mikkelsen, A., Bertelsen, G. (1998). Lipid-derived off-flavours in meat. In F. Shahidi (Ed.), *Flavor of meat, meat products and seafoods*. (pp. 217–256). London, UK: Blackie Academic and Professional.
- Skřivanová, E., Marounek, M., De Smet, S. & Raes, K. (2007). Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal. *Meat Science*, 76(3), 495–500.
- Smith, D. P., Fletcher, D. L., Buhr, R. J. & Beyer, R. S. (1993). Pekin Duckling and Broiler Chicken Pectoralis Muscle Structure and Composition. *Poultry Science*, 72(1), 202–208.
- Smith, G. C., Morgan, J. B., Sofos, J. N. & Tatum, J. D. (1996). Supplemental vitamin E in beef cattle diets to improve shelf-life of beef. *Animal Feed Science and Technology*, 59(1–3), 207–214.
- Smith, R. D., Nicholson, K. L., Nicholson, J. D. W., Harris, K. B., Miller, R. K., Griffin, D. B. & Savell, J. W. (2008). Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. *Meat Science*, 79(4), 631–639.
- Smulders, F. J. M., Marsh, B. B., Swartz, D. R., Russell, R. L. & Hoenecke, M. E. (1990). Beef tenderness and sarcomere length. *Meat Science*, 28(4), 349–363.

- Souza, V. L. F. de & Silva, R. S. S. F. da. (2006). Dietary vitamin E supplementation on cholesterol and cholesterol oxides of pig meat and cooked ham. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(2), 197–205.
- Stolowski, G. D., Baird, B. E., Miller, R. K., Savell, J. W., Sams, A. R., Taylor, J. F., Smith, S. B. (2006). Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscles from three Angus and Brahman breed crosses. *Meat Science*, 73(3), 475–483.
- Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., Koohmaraie, M. & Goll, D. E. (1995). Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? *Journal of Animal Science*, 73(5).
- Tornberg, E. (1996). Biophysical aspects of meat tenderness. *Meat Science*, 43, Supplement 1, 175–191.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493–508.
- Touraille, C. (1991). Qualités organoleptiques des viandes. *Calidad de la canal y de la carne en ruminantes*. Saragoça, Espanha. Policopiado.
- Valin, C. e Ouali, A. (1992). Proteolytic muscle enzymes and *post mortem* meat tenderization. In Smulders, F. J., Toldrá, F., Flores, J. & Prieto, M. – *New Technologies for Meat and Meat Products: Part II. Muscle Enzymology and Meat Ageing*. Nijmegen: Audet Tijdschirften B. V., 1992. ISBN 90-800360-4-8. P. 163-179.
- Van de Water, Verjans, F. & Geers, R. (2003). The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves; pH and colour profiles of veal. *Livestock Production Science*, 82(2–3), 171–179.
- Villarroel, M., María, G. ., Sañudo, C., Olleta, J. . & Gebresenbet, G. (2003). Effect of transport time on sensorial aspects of beef meat quality. *Meat Science*, 63(3), 353–357.

- Warkup, C., Marie, S. & Harrington, G. (1995). Consumer perceptions of texture: the most importante quality atribute of meat? *In* Ouali, A., Demeyer, D. I. & Smulders, F. J. – *Expression of Tissue Proteinases and Regulation of Protein Degradation as Related to Meat Quality*. Utrecht: ECCEAMST, 1995. ISBN 90-75319-02-9. p. 225-237.
- Warner, R. D., Greenwood, P. L., Pethick, D. W. & Ferguson, D. M. (2010). Genetic and environmental effects on meat quality. *Meat Science*, 86(1), 171–183.
- Warriss, P. D. (2010). *Meat science: an introductory text* (2nd ed). Wallingford, UK ; Cambridge, MA: CABI.
- Yang, A., Brewster, M. J., Lanari, M. C. & Tume, R. K. (2002). Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-fed cattle. *Meat Science*, 60(1), 35–40.
- Zerby, H. N., Belk, K. E., Sofos, J. N., McDowell, L. R. & Smith, G. C. (1999). Case life of seven retail products from beef cattle supplemented with alpha-tocopheryl acetate. *Journal of Animal Science*, 77(9).
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J. & Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69(4), 765–772.